

Opinnäytetyö (AMK)

Bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma

Biotekniikka

2011

Susanna Rytönen

LEVYVALMISTUKSEN INKUBOINTIAIKOJEN OPTIMOINTI



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Susanna Rytönen

LEVYVALMISTUKSEN INKUBOINTIAIKOJEN OPTIMOINTI

Opinnäytetyön aiheena oli Wallac Oy:n levyvalmistuksen inkubointiaikojen optimointi. Projektin tarkoituksena oli optimoida nykyisen mikrotiitterilevyjen kouttaus- ja kyllästysinkubointiaikoja. Projekti oli osa suurempaa projektia, jossa uusi levynvalmistuslinjan valmistuskapasiteetti tullaan kasvattamaan suuremmaksi kuin vanhan tuotanto-linjan.

Projektin tavoitteena oli minimoida inkubointiaika, jolloin uusi levynvalmistuslinja voitaisiin lyhyemmällä inkubointiajoilla saada tehokkaammaksi ja levyjä saataisiin valmistettua enemmän lyhyemmässä ajassa.

Projekti jaettiin kahteen vaiheeseen, levyjen kouttausinkubointiajan optimointiin ja levyjen kouttaus- ja kyllästysinkubointiajan optimointiin. Ensimmäisessä vaiheessa oli seitsemän eri inkubointiaikaa ja toisessa vaiheessa kahdeksan eri inkubointiaikaa. Mikrotiitterilevyille tehtiin levylaadunvalvonnan ja loppulaadunvalvonnan testit, jossa saatiin testattavien inkubointiaikojen vaikutus levyihin. Projektissa käytettiin vain yhtä analyytia, jolle inkubointiajan muutoksia testattiin.

Kaikkia tuloksia verrattiin referenssiin. Tulosten perusteella inkubointiaikoja voidaan muuttaa lyhyemmiksi ja lisätutkimuksia voidaan jatkaa muihin analyytteihin. Tuotekehityslaboratorio voi ottaa käyttöön samanlaisen testin uusiin tuleviin tuotteisiin ja voi myös alkaa testata vanhat tuotteet samalla tavalla. Levynvalmistusprosessi lyhenee inkubointiaikoja muuttamalla, jolloin koko prosessi saadaan jopa yhden päivän aikana valmiiksi.

ASIASANAT:

Mikrotiitterilevy, inkubointi, kouttaus, kyllästys

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Degree programme | Biotechnology

June 2011 | 20

Instructors: Ilari Suominen PhD, Jani Heikkilä, MSc

Susanna Rytönen

OPTIMIZATION OF INCUBATION TIMES IN PLATE MANUFACTURING

This concerns the optimization of incubation times in plate manufacturing in plates. The objective of this project was to develop the present coating and saturation incubation times of microtiter plates. The project was part of a more extensive project where a new plate manufacturing line will be modified to be more efficient than the old line.

More specifically, the objective of this project was to achieve the shortest possible incubation time for the new plate manufacturing line will get more powerful and to reach maximum efficiency to produce more plates within a shorter time.

The project was divided into two separate stages, optimization of plate coating incubation time and optimization of plate coating and saturation incubation time. The first stage, seven different incubation times and in the second stage, eight different incubation times were tested. The microtiterplates were subjected to plate quality control and final quality control which revealed the effect of the tested incubation times on the plates. In this project, there was only one analyte was tested for the effect of incubation time.

The results were compared to a reference. On the grounds of the results incubation times can be shortened and further studies with other analytes can be undertaken. The research and development laboratory can apply this test to new products and continue to the testing of old products. The plate manufacturing process will be shorter if incubation times are changes. The whole process may even be completed in one day.

KEYWORDS:

Microtiterplate, incubation, coating, saturation

SISÄLTÖ

1 JOHDANTO	1
2 KEHITYSPROJEKTI	1
2.1 Projektin lähtökohdat	1
2.2 Projektin tarkoitus	2
2.3 Projektin aloitus	2
3 TEORIAOSUUS	4
3.1 96-kuoppainen mikrotiitterilevy	4
3.2 Mikrotiitterilevyn kouttaus- ja kyllästys	4
3.3 DELFIA® Neonatal Screening-tuotteet	5
3.3.1 Neonatal 17 α -OHP-analyytti	5
3.4 17-OHP-määrittäminen	6
3.5 AutoDELFIA®-määrittäminen	7
3.6 17-OHP-kittipakkaus	8
3.7 Levyvalmistuslinja	8
3.8 Levylaadunvalvonta ja loppulaadunvalvonta	9
3.9 0-piste ja kiihdytetty stabiilisuus	9
4 KOKEELLINEN OSA	10
4.1 Vaihe 1: levyjen kouttausinkubointiajan optimointi	10
4.2 Kiihdytetty stabiilisuus vaiheessa 1	10
4.3 Homogeenisuustestit vaiheessa 1	11
4.4 Kombinaattitestit vaiheessa 1	11
4.5 Tulosten välikäsitteily	12
4.6 Vaihe 2: levyjen kouttaus- ja kyllästysinkuboinnin optimointi	12
4.7 Kiihdytetty stabiilisuus vaiheessa 2	12
4.8 Homogeenisuustestit vaiheessa 2	13
4.9 Kombinaattitestit vaiheessa 2	13
5 TULOSTEN KÄSITTELY	13
6 YHTEENVETO	18
LÄHTEET	20

LIITTEET

- LIITE 1. Riskien hallinta projektin kannalta.
- LIITE 2. Vaiheen 1 projektisuunnitelma.
- LIITE 3. Vaiheen 2 projektisuunnitelma.
- LIITE 4. Kombinaattitestit vaiheessa 1.
- LIITE 5. Kombinaattitestit vaiheessa 2.

KUVAT

Kuva 1. Mikrotiitterilevyjä.	4
Kuva 2. Suodatinpaperi, johon otetaan vauvan kantapäästä verta.	5
Kuva 3. 17-OHP-määrityksen toimintaperiaate.	6
Kuva 4. AutoDELFIA® -laite.	7

KUVIOT

Kuvio 1. Kokolevyn mediaanit 0-pisteessä ja kiihdytetyssä stabiilisuudessa.	14
Kuvio 2. Kokolevyn CV% 0-pisteessä ja kiihdytetyssä stabiilisuudessa.	14
Kuvio 3. 0-pisteiden kalibrointikuvaajat.	15
Kuvio 4. Kiihdytetyn stabiilisuuden kalibrointikuvaajat.	16
Kuvio 5. Kittikalibraattorien levyn sisäinen hajonta 0-pisteissä.	16
Kuvio 6. Kittikalibraattorien levyn sisäinen hajonta kiihdytetyssä stabiilisuudessa.	17
Kuvio 8. Kittikalibraattorien levyn sisäinen hajonta 0-pisteissä ja kiihdytetyssä stabiilisuudessa.	17

Lyhenneluettelo:

DELFI[®]A Dissociation-Enhanced Lanthanide Fluorescent Immunoassay

FIA Fluoroimmunoassay / fluoroimmunomääritys

17-OHP Lisämunuaiskuoren liikakasvun määrittämisen analyytti

CV% Coefficient of variation / variaatiokerroin

tCV% CV% targetarvoon eli $SD / Target * 100$

nCV% CV% nominaaliarvoon eli $SD / Nominal * 100$

SD Standard Deviation / keskihajonta

1 Johdanto

Wallac Oy on on PerkinElmerin Turun yksikkö. Vuonna 1950 perustettu Wallac Oy on yksi konsernin merkittävimpiä tuotekehityksen, markkinoinnin ja tuotannon toimipisteitä. Wallac Oy:n asiakkaiden toiminta kohdistuu yleisesti perinnöllisten sairauksien seulontaan, biotieteen eri tutkimusalueisiin ja uusien lääkeaineiden löytämiseen. DELFIA® -teknologiaa eli aikaerotteiseen fluoresenssimittauksiin perustuvia määrittäviä käytetään useimmissa PerkinElmerin tuotteissa. PerkinElmer-konsernin Genetic Screening-yksikön pääkonttori on Bostonissa.¹

Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli kehittää Wallac Oy:n nykyisen yhden analyysin mikrotiiterilevyjen kouttaus- ja kyllästysinkubointiaikoja. Työn tarkoituksena oli lyhentää inkubointiaikoja, jolloin saataisiin uusi levynvalmistuslinja tehokkaammaksi.

Opinnäytetyö tehtiin Turun Wallac Oy:ssa Process engineering-osastossa. Työn projektipäällikkönä ja ohjaana toimi Jani Heikkilä.

2 Kehitysprojekti

2.1 Projektin lähtökohdat

Projektin lähtökohtana on kehittää Wallac Oy:n nykyisen mikrotiiterilevyjen kouttaus- ja kyllästysinkubointiaikoja. Projekti on osa suurempaa projektia, jossa uusi levynvalmistuslinja tullaan muokkaamaan tehokkaammaksi kuin vanha linja. Levynvalmistusprosessia pyritään lyhentämään ja sitä kautta nostamaan valmistuskapasiteettia.

Nykyisessä levynvalmistuslinjalla mikrotiiterilevyt valmistetaan eri vaiheissa ja levyjen valmistukseen kuluu useita päiviä. Uudessa levynvalmistuslinjassa on

tarkoitus saada kaikki vaiheet samalle päivälle, jolloin saadaan valmistettua mikrotiitterilevyjä paljon enemmän tämän hetkiseen levynvalmistuslinjaan verrattuna.

Projektin aloituspalaverissa kerrottiin inkubointiaikojen olevan liian pitkiä ja inkubointiaikoja pitäisi pystyä lyhentämään, mutta asiaa ei ole tarkemmin tutkittu. Uuden linjan tullessa Wallac Oy:lle olisi hyvä olla mahdolliset muutokset tiedossa, koska uusi linja pitää kvalifioida ja validoida ennen käyttöönottoa. Projektin avulla pyritään myös saamaan tuotekehityksen osasto kiinnostumaan asiasta ja jatkamaan tutkimuksia eteenpäin muihin analyytteihin.

2.2 Projektin tarkoitus

Projektin tarkoituksena oli lyhentää levynvalmistuksen kouttaus- ja kyllästysinkubointiaikoja Anti-Rabbit IgG mikrotiitterilevyille, jolloin on mahdollista uudessa levyvalmistuslinjalla valmistaa enemmän levyjä lyhyemmässä ajassa. Tavoitteena oli saada mahdollisimman lyhyt inkubointiaika, jolloin levynvalmistuslinja saataisiin mahdollisimman tehokkaaksi.

Projektin tulokset dokumentoitiin tarkasti, jotta Wallac Oy voi käyttää niitä jatkotutkimuksiin. Toivomuksena oli tuotekehityksen kiinnostuminen aiheesta ja inkubointiaikojen jatkotutkimista muillekin analyyteille.

2.3 Projektin aloitus

Ensimmäiseksi järjestettiin projektipalaveri, jossa sovittiin testattavien levyjen kouttausinkubointiajat. Wallac Oy:lla oli jo tietoa, että lyhyempiä inkubointeja voi tehdä. Lyhyemmistä inkubointiajoista ei kuitenkaan ollut tietoa, että kuinka lyhyeksi ajan voi muuttaa ja sopiiko se kaikille Wallac Oy:n valmistamille levyille.

Wallac Oy:lle tehtiin projektisuunnitelma yhdelle analyyttille, jossa kuvailtiin projektiin kuuluvia osa-alueita ja kuinka pyrittiin pääsemään lopputulokseen. Osa-alueita olivat testauksen kuvaus ja tarkoitus. Testauksen suoritus kuvailtiin myös tarkasti: alkuvalmistelut, materiaalit, aikataulutus, toteutus ja riskien hallinta. (LIITE 1)

Projekti jaettiin kahteen vaiheeseen. Ensimmäisessä vaiheessa muutettiin ainoastaan Anti-Rabbit IgG mikrotiitterilevyn kouttausinkubointiaikaa. Toisessa vaiheessa otettiin kaksi parhaaksi todettua kouttausinkubointiaikaa ja muutettiin kyllästysinkubointiaikaa. Molemmille vaiheille tehtiin omat projektisuunnitelmat, jotka teki projektipäällikkö Jani Heikkilä ja minä. (LIITE 2 ja 3)

Valittiin yksi analyytti, jolla mikrotiitterilevyjä aletaan testaamaan levy- ja loppulaadunvalvonnassa. Valittiin seitsemän eri inkubointiaikaa. Testilevyt valmistettiin samalla linjalla kuin kaikki normaalit levyt. Testilevyjen referenssilevyt otettiin samasta erästä, jolloin laadunvalvonnan tuloksia pystyttiin suoraan vertaamaan referenssiin.

Levy- ja loppulaadunvalvonnan määritykset suoritettiin samalla tavalla kuin normaalin tuotteen testaukset. Suoritin määritykset itse. Levy- ja loppulaadunvalvonnan määrityksissä käytettävät komponentit olivat samoja kuin tuotantoerien oikeissa laadunvalvontamäärityksissä.

Ensimmäisessä vaiheessa aloitettiin ensin muuttamalla kouttausinkubointiaikaa seitsemään eri aikaan ja selvitettiin optimiajat. Tämän jälkeen otettiin parhaaksi todetut kaksi uutta inkubointiaikaa seuraaviin testauksiin, kun muutettiin kyllästysinkubointia. Tässä toisessa vaiheessa kyllästyinkuboinniksi valittiin kahdeksan eri inkubointiaikaa.

Projektissa jouduttiin olemaan yhteyksissä monien eri alojen specialistien kanssa, kuten tuotekehityksen, levyvalmistuksen tuotannon henkilöstön ja Wallac Oy:n eri osastojen kemistien kanssa. Kaikkien eri osaajien avulla saatiin laajempi näkökulma projektille. Lopuksi tehtiin yhtenäinen loppuraportti Wallac Oy:lle molemmista vaiheista.

3 Teoriaosuus

3.1 96-kuoppainen mikrotiitterilevy

Käyttämässämme mikrotiitterilevyssä on 96 kaivoa. Se koostuu kahdeksasta stripsistä, joissa jokaisessa stripsissä on 12 kuoppaa toisissaan kiinni. Stripsit on mahdollista irrottaa levyltä, jos haluaa. Yhden kuopan tilavuus on 400 µl. Mikrotiitterilevyjä kuvassa 1.



Kuva 1. Mikrotiitterilevyjä.²

3.2 Mikrotiitterilevyn kouttaus- ja kyllästys

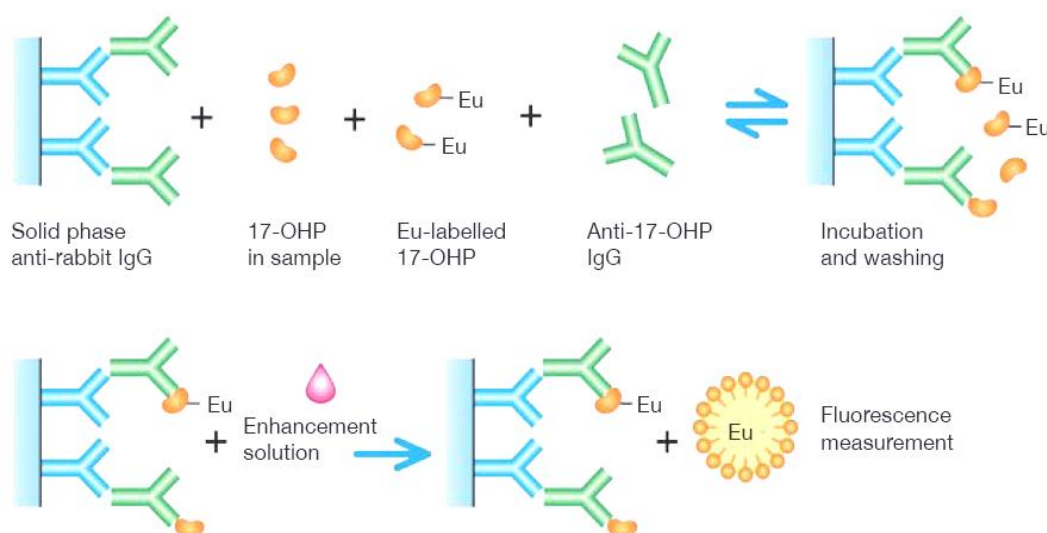
Mikrotiitterilevy pinnoitetaan halutulla vasta-aineella, tässä tapauksessa Anti-Rabbit IgG:llä ja annetaan inkuboitua tietyn aikaa. Kyseessä on kouttausvaihe. Tämän jälkeen levyt pestään eli aspiroidaan. Levyihin annostellaan kyllästys- eli saturaatioliuos, jonka annetaan inkuboitua tietty aika. Kyllästyksessä saturointiliuokseen on liuennut ainetta niin paljon kuin yleensä voi liueta. Tämän jälkeen levyt aspiroidaan ja pakataan.

kohonneena, jos entsyymihäiriötä on steroidiaineenvaihdunnassa. Hoitona on puuttuvan hormonin antaminen. Varhaisessa vaiheessa aloitettu hoito saattaa ehkäistä lapsen kuoleman tai kehitys- ja kasvuhäiriötä.⁵ Kliiniset piirteet ovat muun muassa hypoglysemia eli verensokerin niukkuus, suolan puute ja nestehukka ovat hengenvaarallista ensimmäisten viikkojen aikana.⁶

Tyypillisin on 21-hydroksyylipuute, joka on 80 % kaikista tapauksista. Suomessa tapauksia on 1:15 000 vuodessa eli noin neljä uutta tapusta/vuosi.⁷

3.4 17-OHP-määritys

Neonatal 17 α -OHP on kilpaileva aikaerotteinen fluoroimmunomääritys (FIA). Kuvassa 3 on esitettyä 17-OHP-määrityksen vaiheet.



Kuva 3. 17-OHP-määrityksen toimintaperiaate.⁸

17-OHP-määrittelyssä käytetään 17-OHP-spesifistä monoklonaalista vasta-ainetta, anti-17-OHP IgG:tä. Leimatun 17-OHP:n ja näytteessä olevan 17-OHP:n välille syntyy kilpailutilanne, kun vasta-ainetta on rajallinen määrä. Anti-Rabbit IgG on sidottu kiinteään alustaan, tässä tapauksessa mikrotiiterilevyn pohjaan. Anti-Rabbit IgG sitoo 17-OHP-IgG:n alustaan ja kiinnittymisen jälkeen kaikki alustaan sitoutumattomat aineet pestään pois.⁹

Leimatun 17-OHP europium-ionit irrotetaan immunoreaktion jälkeen, jossa ne muodostavat fluoresoivia kelaatteja kehitysliuoksen komposiittien kanssa. Tämän jälkeen aikaerotteinen fluoresenssi mitataan ja signaali on kääntäen verrannollinen 17-OHP pitoisuuteen näytteessä.

3.5 AutoDELFIA®-määrittely

AutoDELFIA®-määrittely 17-OHP:lle tehdään kuivuneiden veritäplien avulla. Kuivuneet veritäplät ovat huokoisessa paperissa. Tulokset saadaan samana päivänä, kun määrittely on aloitettu AutoDELFIA® -laitteessa. Määrittely on automaattinen AutoDELFIA® -laitteen avulla, joka on kuvan 4 näköinen laite.



Kuva 4. AutoDELFIA® -laite.¹⁰

Yleensä sairaalat käyttävät automaatti-punchereita, jotka lävistää veritäplät mikrotitterilevyn pohjaan ja sen jälkeen siirretään levyt AutoDELFLIA® -laitteeseen

Mikrotitterilevylle lävistetään puncherilla standardit, kontrollit ja näytteet. Tämän jälkeen laitteelle asetetaan leimapullot, antiseerumipullot ja puskuripullot. Laitteelle ladataan mikrotitterilevyt ja tämän jälkeen laite on valmis. Tarkistetaan vielä pesuliuosten määrä laitteen alla olevista pesupulloista. Ennen ajon aloittamista laite kertoo kuinka paljon tarvitsee pesuliuoksia.

3.6 17-OHP-kittipakkaus

Kitti on kemiallinen testisarja, jossa on mukana kaikki tarvittavat testikomponentit. 17-OHP-kitissä on Anti-Rabbit IgG vasta-aineella pinnoitettu (koutattu) mikrotitterilevy, tunnetun pitoisuuden mitattavaa ainetta sisältävät kuusi kalibrointiarkkia (standardit), kuusi tunnetun pitoisuuden sisältävää kontrolliarkkia, 17-OHP-Europium-leimattu merkkiaine, 17-OHP antiseerumi ja 17-OHP määrityspuskuri.

3.7 Levyvalmistuslinja

Levyvalmistuslinjalla tuotetaan mikrotitterilevyjä, jotka pinnoitetaan vasta-aineella. Prosessiin kuuluvat kouttaus-, pesu- ja kyllästysliuosten valmistus, vasta-aineen esi-käsittely, vasta-aineliuosten annostelu, inkubointi, koutausliuoksen aspirointi, pesu- ja kyllästysliuoksen annostelu, inkubointi, kyllästysliuoksen aspirointi. Lopuksi levy pakataan kuivauspussin kanssa.

Immunologinen reaktio tapahtuu vasta-aineella pinnoitetun mikrotitterilevyn kuopissa. Anti-Rabbit IgG pinnoitetuilla levyissä toinen vasta-aine reagoi kuoppien pintaan immobilisoidun vasta-aineen kanssa. Koutatun levyn pitää sisältää riittävä määrä vasta-ainetta, olla homogeeninen ja riittävän vapaa häiritsevästä tekijöistä.

Koutatun levyn täytyy sisältää riittävästi ja tasaisesti vasta-ainetta jokaisessa kuopassa. Mikroitiitterilevy ei myöskään sisällä tekijöitä, jotka voivat nostaa taustaa, muuttaa kontrollitasoa tai huonontaa säilyvyyttä. Levyn pitää olla tarpeeksi kostea tai kuiva riippuen tuotteesta. Levy täytyy olla tiiviisti pakattuna, jolloin se säilyy sovitun ajan.¹¹

Levyjen huonolaatuisuuteen vaikuttavat muun muassa likaiset levyt, jolloin kouttausliuos ei pääse tarttumaan tasaisesti levyn kuoppien pohjalle.

3.8 Levylaadunvalvonta ja loppulaadunvalvonta

Levylaadunvalvonnassa tehdään homogeenisuustestit, jossa testataan kuoppien ja levyjen välinen tasalaatuisuus vertaamalla kuoppien ja levyjen välistä signaalitason CV:tä.

Loppulaadunvalvonnassa tehdään kombinaattitestit, jossa testataan komponenttien yhteensopivuus ja spesifikaatioiden mukainen toimivuus.

3.9 0-piste ja kiihdytetty stabiilisuus

0-piste tarkoittaa mikroitiitterilevyjä, jotka ovat normaalissa säilytyksessä kylmiössä $+ 2 - + 8$ °C:ssa. Kiihdytetty stabiilisuus tehdään olosuhdekaapissa $+ 35$ °C:ssa kahden viikon ajan, jossa on suhteellinen kosteus 80 %. Se vastaa puolitoista vuotta levyjen säilytystä normaaliolosuhteissa $+ 2 - + 8$ °C:ssa. Tätä kautta saadaan testattua mikroitiitterilevyjen säilyvyys. Käsittelyn jälkeen mikroitiitterilevyt siirretään kylmiöön $+ 2 - + 8$ °C:seen.

0-pisteen ja kiihdytetyn stabiilisuuden tuloksia vertaamalla saadaan selville, säilyvätkö mikroitiitterilevyt inkubointiaikojen muututtua. Reaaliaikaista stabiilisuustestiä ei ehditä tekemään, joten kiihdytetty stabiilisuus on ainoa vaihtoehto testata levyjen säilyvyyttä.

4 Kokeellinen osa

Testissä käytetyt mikrotiitterilevyt valmistettiin levyvalmistuslinjalla, homogeenisuustestit tehtiin levylaadunvalvonnassa ja kombinaattitestit tehtiin loppulaadunvalvonnassa.

4.1 Vaihe 1: levyjen kouttausinkubointiajan optimointi

Ensimmäisessä vaiheessa muutettiin ainoastaan kouttausinkubointiaikoja. Valittiin seitsemän eri aikaa kouttausinkuboinniksi. Levyt valmistettiin levyvalmistuksessa. Levyt merkattiin tarkasti, etteivät ne sekoittuneet normaalien levyjen kanssa.

Levyt valmistettiin samalla tavalla kuin normaalit levyt paitsi, että tässä ensimmäisessä vaiheessa kouttausinkubointi muutettiin halutuiksi ajoiksi. Muuten kaikki muut vaiheet levynvalmistuksessa suoritettiin normaalisti levynvalmistuslinjalla. Nämä testilevyt otettiin talteen toiseen kylmiöön, etteivät sekoitu normaalien tuotteiden kanssa.

4.2 Kiihdytetty stabiilisuus vaiheessa 1

Suoritettiin kiihdytetty stabiilisuus mikrotiitterilevyille. Jokaisesta seitsemästä eri aikapisteestä otettiin olosuhdekaappiin levyjä 35 °C:seen kahden viikon ajaksi, jossa oli suhteellinen kosteus 80 %. Samaan käsittelyyn laitettiin myös referenssilevyjä. Kahden viikon jälkeen levyt siirrettiin kylmiöön ja pidettiin minimissään yön yli, jotta viilenivät jääkaappilämpötilaan ennen homogeenisuus- ja kombinaattitestejä.

4.3 Homogeenisuustestit vaiheessa 1

Levylaadunvalvonnassa suoritettiin homogeenisuustestit. Homogeenisuustesti eli kokolevyjen signaalitaso mitattiin koko 96-mikrotiitterilevyn jokaisesta kuopasta erikseen. Laskettiin kokolevyn CV%:t eli suhteellinen keskihajonta ja verrattiin tuloksia referenssiin. Kokolevyn signaalitason avulla saadaan selville kuinka stabiili levy on. Homogeenisuustestissä seurataan myös kokolevyn mediaania eli keskilukua, joka on järjestetyn joukon keskimäinen luku. Jokaisesta levystä tarkistettiin kokolevyn mediaani. Anti-Rabbit IgG levyllä oli omat ohjausrajansa ja hyväksymisrajansa, joiden perusteella tulokset hyväksyttiin tai hylättiin.

Määritykset tein kahdella eri AutoDELFI[®] -laitteella. Jokaista seitsemää eri aikapistettä testattiin kaksi levyä/aikapiste. Mukana testeissä oli myös referenssilevyt. Samalla tavalla tehtiin määritykset vaiheen 1 kiihdytetyille stabiilisuuden levyille.

4.4 Kombinaattitestit vaiheessa 1

Kombinaattitestit suoritetaan loppulaadunvalvonnassa, jossa testataan koko kitin toimivuus. Kombinaattitestit tehtiin kahdella eri AutoDELFI[®] -laitteella. Jokaista seitsemää eri aikapistettä testattiin kaksi levyä/aikapiste. Mukana testeissä oli myös referenssilevyt. Samanlaiset määritykset tehtiin vaiheen 1 kiihdytetyille stabiilisuuden levyille.

Kombinaattitestissä oli kittikontrollit 1-3, kontrollit Q1-Q3, kittikalibraattorit S1-S6 ja tasokalibraattorit K1-K5. Kittikalibraattorit S1-S6 olivat kitin mukana tulevat 17-OHP-kalibraattorit eli standardit A-F. Kittikalibraattorien pitoisuudet ovat 0, 6, 14, 34, 103 ja 300 ng/ml. Kittikontrollit 1-3 olivat myös kitin mukana tulevat 17-OHP-kontrollit C1-C3. Kittikontrollien pitoisuudet olivat 17 ng/ml, 45 ng/ml ja 100 ng/ml. Wallac Oy on itse valmistanut kontrollit Q1-Q3 ja tasokalibraattorit K1-K5. Ne on valmistettu vastaavanlaisesti kuin mitattaisiin näytettä.

Kombinaattitestissä kaikista kittikalibraattoreista S1-S6 ja kittikontrolleista 1-3 laskettiin levyn sisäinen hajonta nCV% ja signaalien keskiarvo. Kaikista kontrolleista Q1-Q3 ja tasokalibraattoreista K1-K5 laskettiin pitoisuuden keskiarvo ja levyn sisäinen hajonta tCV%. Lisäksi tasokalibraattoreista laskettiin ero targetista%.

4.5 Tulosten välikäsittely

Kaikki tulokset olivat yhtä hyviä, eikä mitään poikkeavuuksia löytynyt. Keskusteltiin eri henkilöiden kanssa tuloksista palaverissa ja päätettiin valita toiseen vaiheeseen kaksi eri kouttausinkubointiaikaa. tCV% kuvaajien liitteissä tarkoittaa CV% targetarvoon eli $SD / Target * 100$. (LIITE 4)

4.6 Vaihe 2: levyjen kouttaus- ja kyllästysinkuboinnin optimointi

Toisessa vaiheessa muutettiin molempia kouttaus- ja kyllästysinkubointiaikoja. Valittiin kahdeksan eri aikaa kyllästysinkuboinniksi. Levyt valmistettiin levyvalmistuksessa. Levyt merkattiin edelleen todella tarkasti, etteivät ne sekoittuneet normaalien levyjen kanssa. Tässä toisessa vaiheessa kouttaus- ja kyllästysinkuboinnit muutettiin halutuiksi ajoiksi ja kaikki muut vaiheet levynvalmistuksessa suoritettiin normaalisti levynvalmistuslinjalla. Testilevyt vietiin kylmiöön.

4.7 Kiihdytetty stabiilisuus vaiheessa 2

Suoritettiin kiihdytetty stabiilisuus mikrotiitterilevyille samalla tavalla kuin vaiheessa 1. Jokaisesta kahdeksasta eri aikapisteestä ja referenssilevyistä otettiin lämpökaappiin levyjä 35 °C:seen kahden viikon ajaksi, jossa oli suhteellinen kosteus 80 %. Käsittelyn jälkeen levyt siirrettiin kylmiöön ja pidettiin

minimissään yön yli, jotta viilenivät jääkaappilämpötilaan ennen homogeenisuus- ja kombinaattitestejä.

4.8 Homogeenisuustestit vaiheessa 2

Homogeenisuustestit tehtiin samalla tavalla kuin vaiheessa 1 kahdella AutoDELFIA® -laitteella. Jokaista kahdeksaa eri aikapistettä ja referenssilevyjä testattiin kaksi levyä/aikapiste. Samalla tavalla tehtiin määritykset vaiheen 2 kiihdytetyille stabiilisuuden levyille.

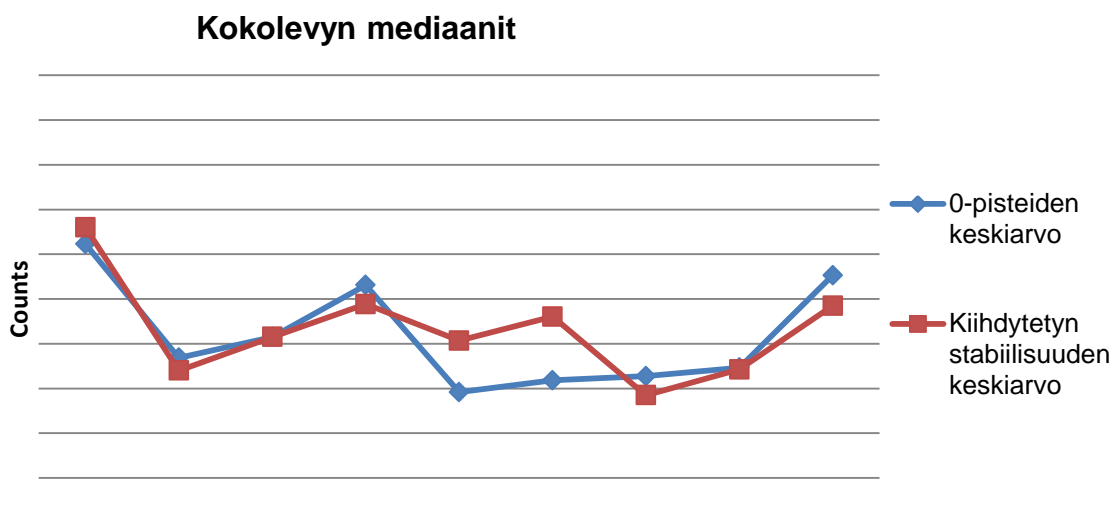
4.9 Kombinaattitestit vaiheessa 2

Kombinaattitestit tehtiin samalla tavalla kuin vaiheessa 1 kahdella AutoDELFIA® -laitteella. Jokaista kahdeksaa eri aikapistettä ja referenssilevyjä testattiin kaksi levyä/aikapiste. Samanlaiset määritykset tehtiin vaiheen 2 kiihdytetyille stabiilisuuden levyille. (LIITE 5)

5 Tulosten käsittely

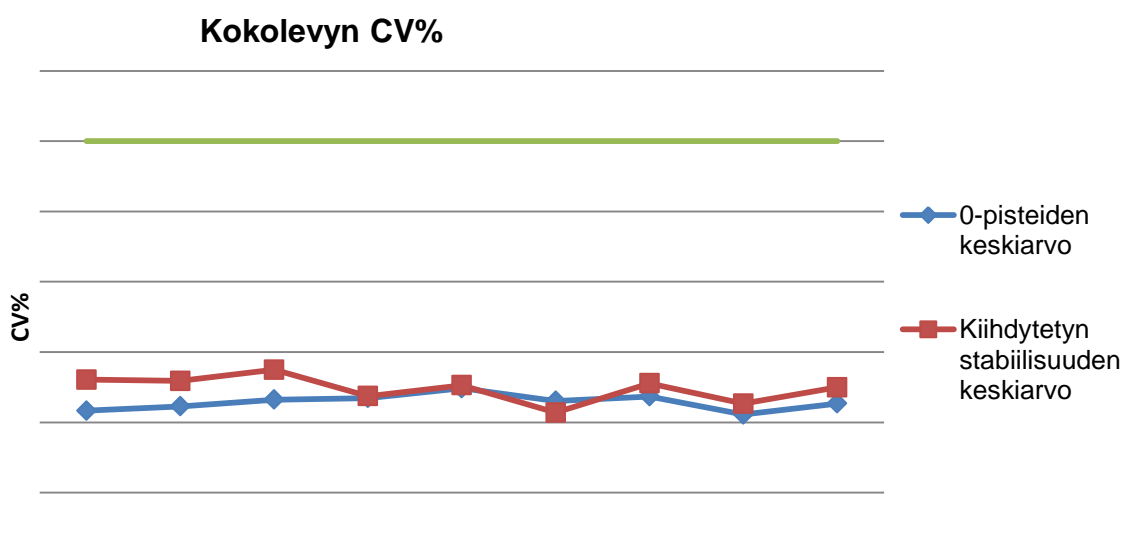
Laskin vaiheen 2 homogeenisuustuloksista keskiarvot jokaisesta aikapisteen kokolevyn mediaaneista ja CV%:sta, jossa kouttaus- ja kyllästysinkubointia oli muutettu. Piirsin kuvaajat 0-pisteiden ja kiihdytetyn stabiilisuuden keskiarvoista. Kuviossa 1 ja 2 on mukana myös referenssilevyn tulokset.

Verrattaessa kuvion 1 kokolevyn mediaaneja huomaa, että suurta eroa ei ole kiihdytettyjen stabiilisuuksien ja 0-pisteiden tuloksissa eri aikapisteissä.



Kuvio 1. Kokolevyn mediaanit 0-pisteessä ja kiihdytetyssä stabiilisuudessa.

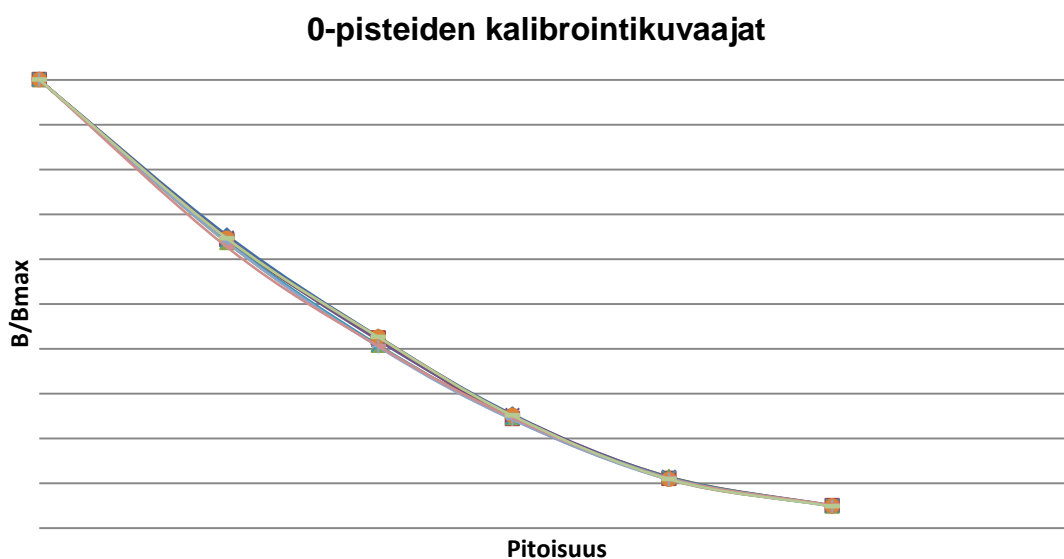
Kuvion 2 kokolevyn CV% verrattaessa on todella pieniä eroja kiihdytettyjen stabiilisuuksien ja 0-pisteiden tuloksissa eri aikapisteissä. Kuviossa 2 on referenssilevyn tulokset myös. Vihreä viiva kuviossa 2 on raja, jonka alla tulokset täytyy olla.



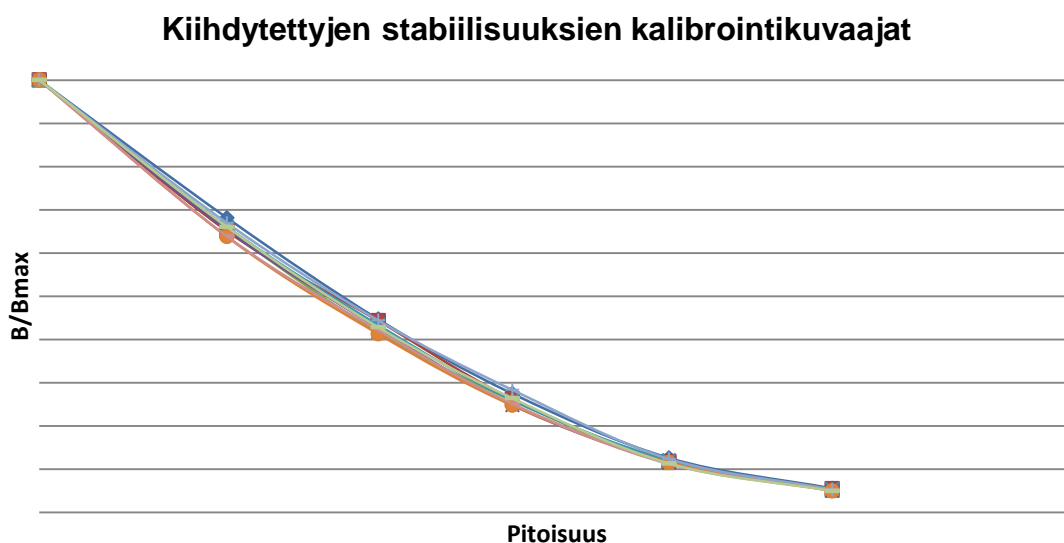
Kuvio 2. Kokolevyn CV% 0-pisteessä ja kiihdytetyssä stabiilisuudessa.

Laskin vaiheen 2 kombinaattituloksista keskiarvot jokaisesta aikapisteen kuudesta standardeista, jossa kouttaus- ja kyllästysinkubointia oli muutettu. Tämän jälkeen piirsin kalibrointikuvaajat 0-pisteiden ja kiihdytetyn stabiilisuuden standardien keskiarvoista. Kuvaajissa on mukana myös referenssilevyn tulokset.

Verrattaessa kuvioiden 3 ja 4 kalibrointikuvaajia huomaa, että kiihdytettyjen stabiilisuuksien kalibrointikuvaajassa eri aikapisteen kalibrointikuvaajassa erillään toisistaan kuin 0-pisteen kalibrointikuvaajassa. Kuitenkaan mitään huomattavaa eroa ei ole näkyvissä, joten tulokset ovat kaikki yhtä hyviä. B/B_{\max} kuvioissa 3 ja 4 tarkoittaa sitoutuneen antigeenin osuutta maksimisitoutumisesta.

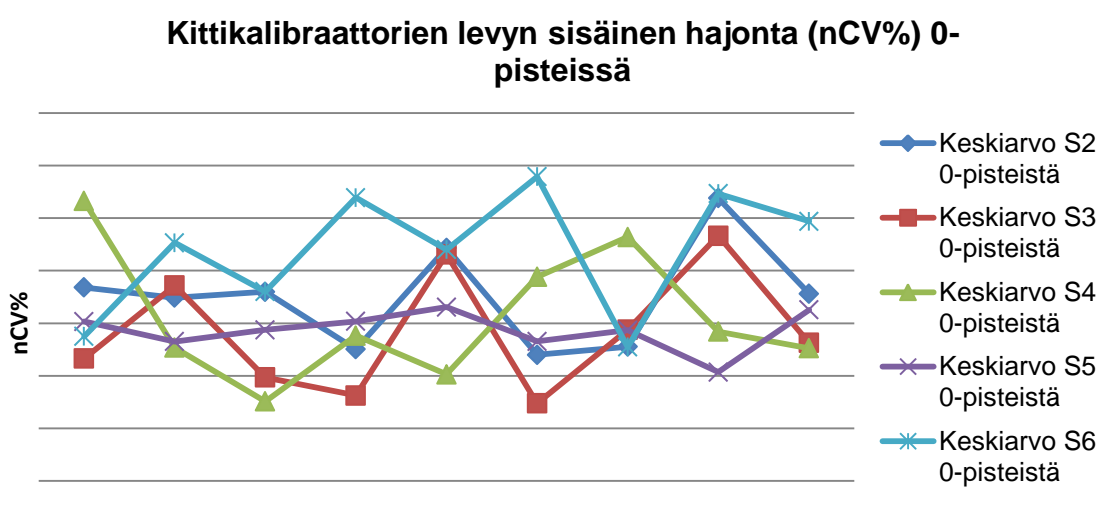


Kuvio 3. 0-pisteiden kalibrointikuvaajat.



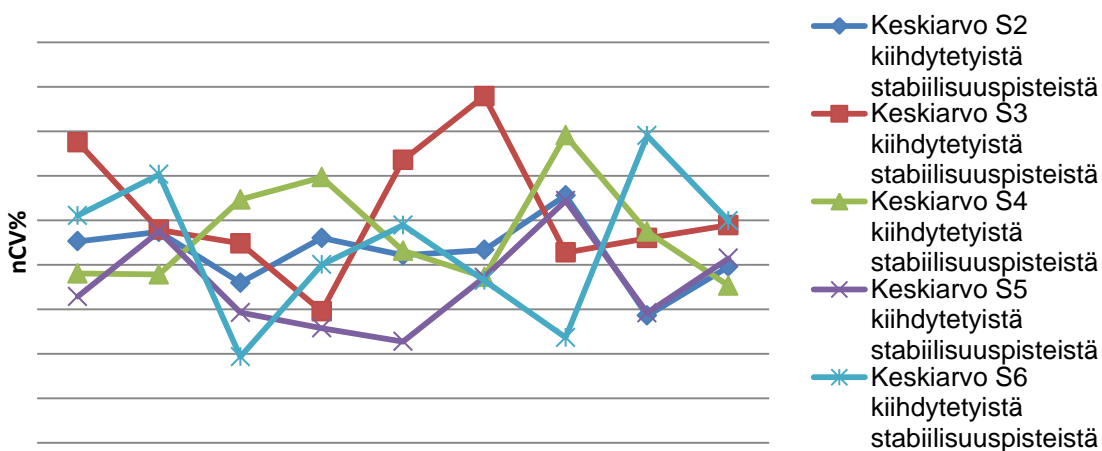
Kuvio 4. Kiihdytetyn stabiilisuuden kalibrointikuvaajat.

Piirsin vielä kombinaatitestin kittikalibraattoreiden levyn sisäisestä hajonnasta (nCV%) kuvaajat. nCV% on CV% nominaaliarvoon eli $SD / \text{Nominal} * 100$. Kaikki tulokset olivat alle kymmenen 0-pisteessä ja kombinaattitestissä eli todella hyviä tuloksia.



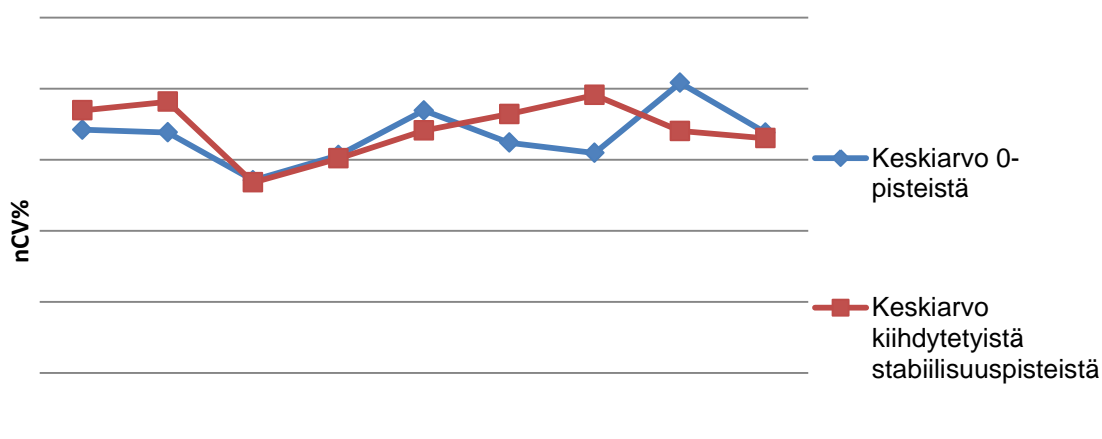
Kuvio 5. Kittikalibraattorien levyn sisäinen hajonta (nCV%) 0-pisteissä.

Kittikalibraattorien levyn sisäinen hajonta (nCV%) kiihdytetyssä stabiilisuuspisteissä



Kuvio 6. Kittikalibraattorien levyn sisäinen hajonta (nCV%) kiihdytetyssä stabiilisuudessa.

Kittikalibraattorien levyn sisäinen hajonta (nCV%) 0- pisteissä ja kiihdytetyssä stabiilisuudessa



Kuvio 8. Kittikalibraattorien levyn sisäinen hajonta 0-pisteissä ja kiihdytetyssä stabiilisuudessa.

Tulosten perusteella Anti-Rabbit IgG vasta-aine on ehtinyt tarttua tarpeeksi kiinni levyn kuoppiin testattujen inkubointiaikojen aikana. Homogeenisuustestien kokolevyn mediaanit ja CV%:t eivät eronneet referenssistä merkittävästi missään vaiheessa.

Kombinaattitestin kalibrointikuvaajissa ei ollut suuria eroja. Kiihdytetyn stabiilisuuden kalibrointikuvaajassa huomaa eri aikapisteiden erkanevan toisistaan enemmän kuin 0-pisteen, mutta ei kuitenkaan huomattavasti.

Homogeenisuus- ja kombinaattitesteissä ei ollut suuria eroja referenssiin verrattuna, joten mikä tahansa aikapiste voisi olla mahdollinen uusi inkubointiaika. Vaiheen 2 tuloksien perusteella inkubointiaikojä voidaan muuttaa 17-OHP-analyytin Anti-Rabbit IgG levyille.

6 Yhteenveto

Projektin tavoitteena oli lyhentää levynvalmistuksen kouttaus- ja kyllästysinkubointiaikoja yhdelle analyytillle, jolloin olisi mahdollista uudessa levyvalmistuslinjalla valmistaa enemmän levyjä lyhyemmässä ajassa. Tavoitteena oli saada mahdollisimman lyhyt inkubointiaika, jolloin levynvalmistuslinja saataisiin lyhyemmillä inkubointiajoilla tehokkaammaksi.

Syksyn 2009 ja kevään 2010 aikana suoritettujen määritysten mukaan inkubointiaikaa voidaan muuttaa millaiseksi tahansa, joita testasimme. Vaihe 1 ja 2 todistavat, että kaikki tulokset ovat erinomaisia. Projektı onnistui erittäin hyvin ja päästiin haluttuun lopputulokseen. Projektin toteutus onnistui melko mutkikkaasti ja sain tehtyä määritykset omalla tahdillani.

Projektin tulosten perusteella tuotekehityslaboratorio voivat testata muita analyyttejä ja uusia tuotteita samalla tavalla kuin tässä opinnäytetyössä tehtiin. Tästä oli tuotekehitykselle suuri apu tuloksista, jotta voivat muuttaa toimintapojaan kehityksessä inkuboinnin suhteen.

Uusi levyvalmistuslinja voi ottaa käyttöönsä uudet lyhyet inkubointiajat Anti-Rabbit IgG-levylle jo laitteen kvalifioinnin ja validoinnin aikana, jonka jälkeen uudet inkubointiajat ovat valmiita tuotantokäyttöön. Kaikki seitsemän kouttaus- ja kahdeksan kyllästysinkubointiaikaa mahdollistavat uuden levyvalmistuslinjan moniin mahdollisuuksiin. Inkubointiaika riippuu kuinka paljon kerralla halutaan pinnoittaa levyjä, jotta inkubointi olisi kuitenkin mahdollisimman sama kaikilla levyillä. Levyvalmistuksen kaikki vaiheet voidaan suorittaa samana päivänä, joten lyhennystä inkubointeihin saatiin reilusti. Uuden levyvalmistuslinjan tehokkuus nousee huomattavasti.

Haluan kiittää kaikkia projektissa mukana olleita henkilöitä, jotka ovat auttaneet tämän opinnäytetyön valmistumisessa. Erityisesti haluan kiittää projektipäällikkö Jani Heikkilää suuresta kannustuksesta, positiivisuudesta ja avusta koko opinnäytetyön teon aikana.

Haluan myös kiittää Turun ammattikorkeakoulua ja erityisesti opinnäytetyön ohjaajaa Ilari Suomista avusta opinnäytetyön tekoon liittyvistä ongelmista.

Lisäksi haluan kiittää perhettäni ja ystäviäni tuesta, jota olen saanut kouluvuosieni aikana.

Opinnäytetyö oli erittäin kiinnostava ja opin projektissa työskentelyn alusta loppuun asti. Työ opetti työskentelemään monen eri osaajan kanssa ja samalla näki laajemmalla näkökannalta koko työn vaikutuksen. Yksi muutos prosessiin, tässä tapauksessa inkuboinnin lyheneminen voi muuttaa työskentelytapoja jo huomattavasti. Levyvalmistusprosessin saaminen inkuboinneilla yhteen päivään on suuri saavutus ja säästö yritykselle.

LÄHTEET

¹ <http://www.turkudee.fi/public/download.aspx?ID=55149&GUID=%7B816447C4-1912-4D3B-9B3E-38A7A5BF6FE1%7D>, Viitattu 12.2.2010

² <http://www.kaivogen.com/products.html>, Viitattu 27.4.2011

³ Perkin Elmer, 2010a, DELFIA Neonatal Screening- tuotteet, Perehdytyskansio, Viitattu 25.3.2010

⁴ <http://www.turkudee.fi/public/download.aspx?ID=55149&GUID=%7B816447C4-1912-4D3B-9B3E-38A7A5BF6FE1%7D>, Viitattu 12.2.2010

⁵ Perkin Elmer, 2010a, DELFIA Neonatal Screening- tuotteet, Perehdytyskansio, Viitattu 25.3.2010

⁶ Hetty J. van der Kamp et al. (2005) Cutoff Levels of 17- α -Hydroxyprogesterone in Neonatal Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia Should Be Based on Gestational Age Rather Than on Birth Weight, The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, Vol. 90 no 7. 3904–3907

⁷ Jarmo Jääskeläinen et al. (1996) 21-hydroksivajeen sikiökautinen diagnostiikka ja deksametasonihoito, Duodecim, 112(14):1258

⁸ http://las.perkinelmer.com/Content/RelatedMaterials/Brochures/BRO_CongenitalAdrenalyHyperplasiaScreening.pdf, Viitattu 23.3.2010

http://las.perkinelmer.com/Content/RelatedMaterials/Brochures/BRO_CongenitalAdrenalyHyperplasiaScreening.pdf, Viitattu 23.3.2010

¹⁰ <http://neoscreengr.com/index-2en.html>, Viitattu 29.8.2010

¹¹ Perkin Elmer, 2010b, Levynvalmistuksen yleiset menettelyt 1390 1679, Perehdytyskansio, Viitattu 25.3.2010

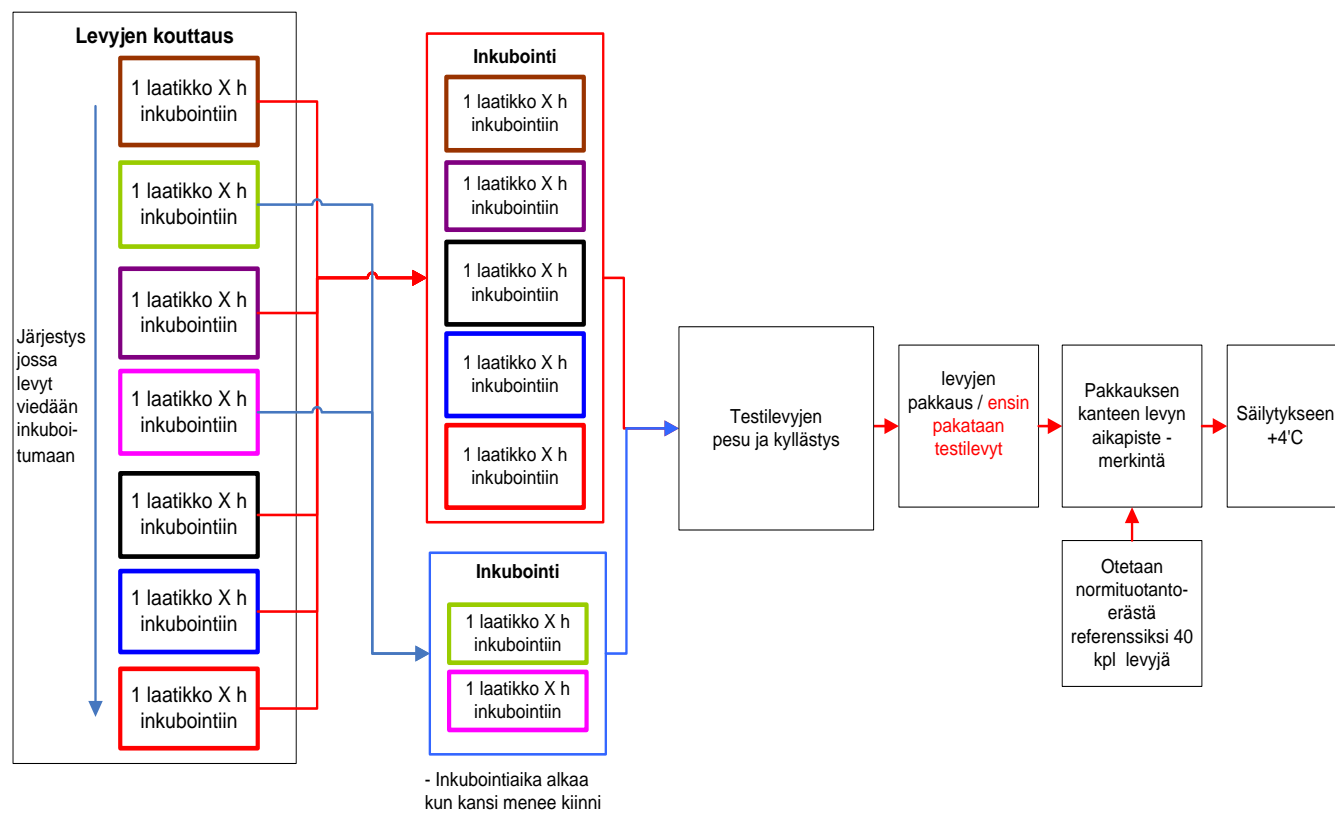
Riskien hallinta projektin kannalta.

Riski	Todnäk.	Vaikutus	Havait.	Kriit. (TxVxH)	Ehkäisy
Testierä menee sekaisin tuotteen kanssa.	3	3	3	27	Merkitään laatikot ja levyt erikseen ja tiedotetaan tuotantoa selkeästi testien suorituksesta.
Kouttausinkuboinnin jälkeinen pesu viivästyy.	2	2	3	12	Selkeä suunnitelmallisuus tuotannon ohjauksen kanssa ja tekninen ryhmä avustamassa siltä varalta, että tuotantolinjoihin tulee toimintahäiriö.
Inkuboinnin aikana tapahtuvan lämmön johtuminen epätasaista levyjen välillä ja siten aiheuttaa ”kohinaa” CV % tuloksiin.	3	2	3	18	Laatikossa olevat levypakan levyt voidaan merkitä erikseen, jotta nähdään lämmön johtumisen vaikutus inkubointiin.
Väärät johtopäätökset tuloksista.	3	3	3	27	Yhtä aikapistettä kohden 40 kpl levyjä jolloin mahdollista tehdä tarpeeksi kattava näyteotanta.
Määrittäislaitteen tulos virheellinen	1	3	3	9	Laite oltava kalibroitu ja huollettu.

Aikataulun venyminen	3	3	3	27	Jatkuva seuranta ettei ote ala lipsua.
----------------------	---	---	---	----	--

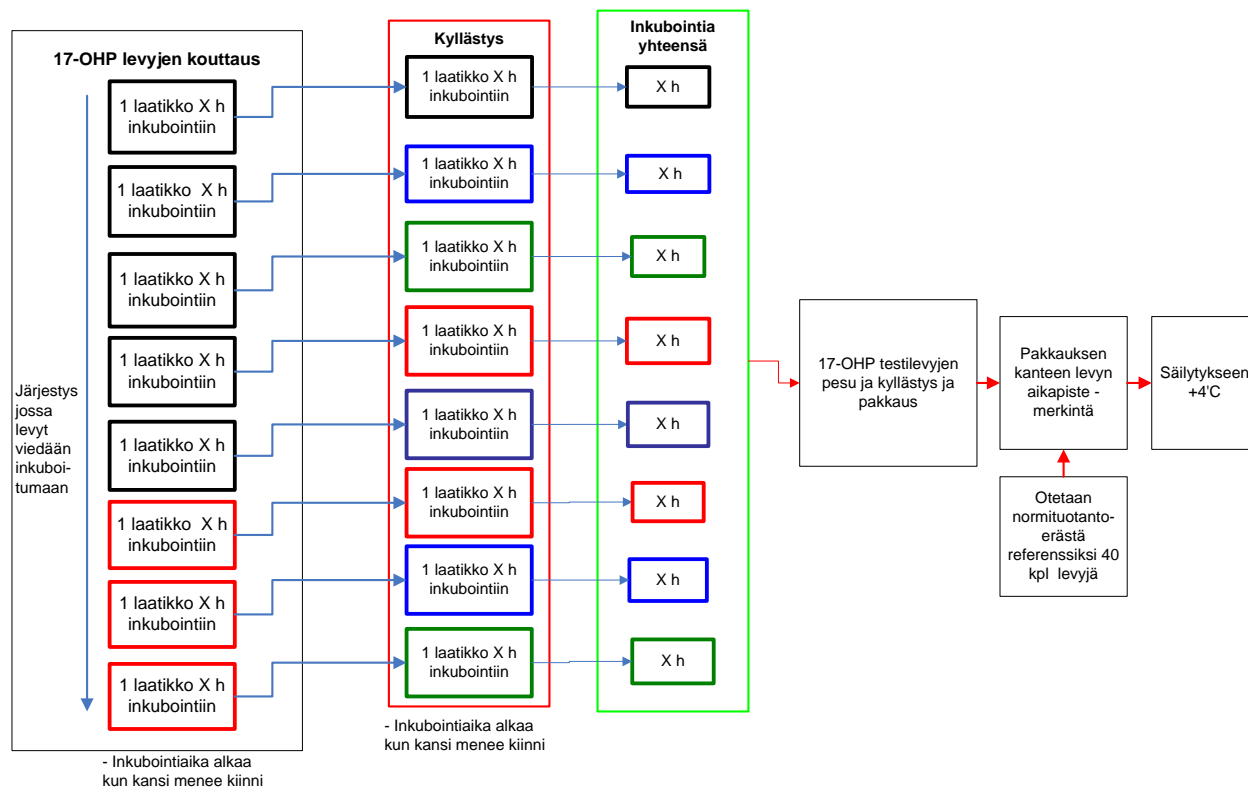
Vaiheen 1 projektisuunnitelma.

Kouttausinkuboinnin optimointi

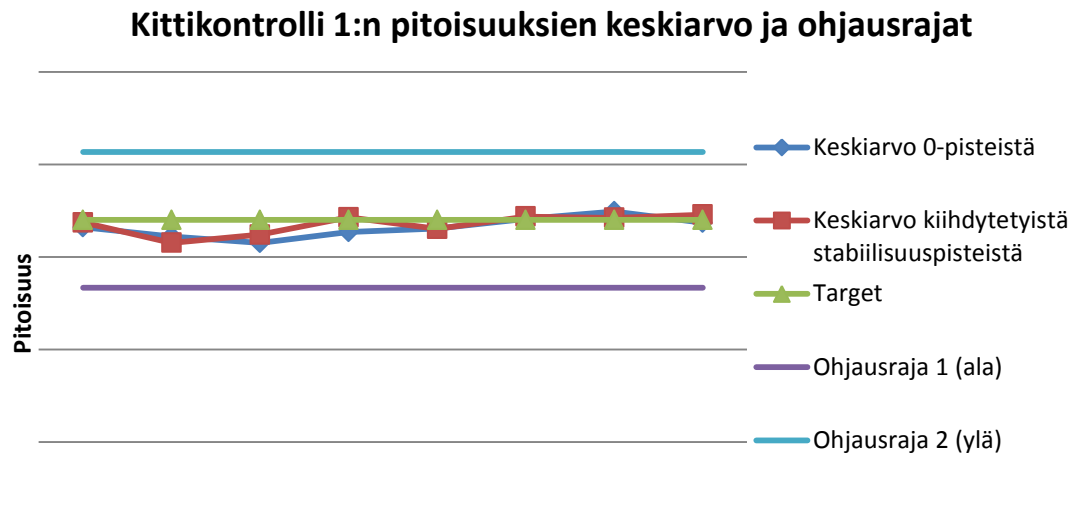


Vaiheen 2 projektisuunnitelma.

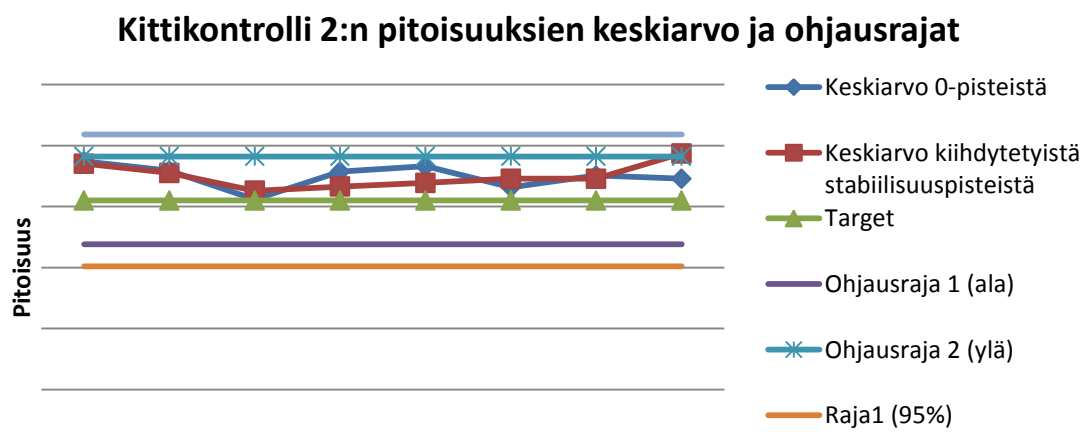
Kyllästysinkuboinnin optimointi



Kombinaattitestit vaiheessa 1.

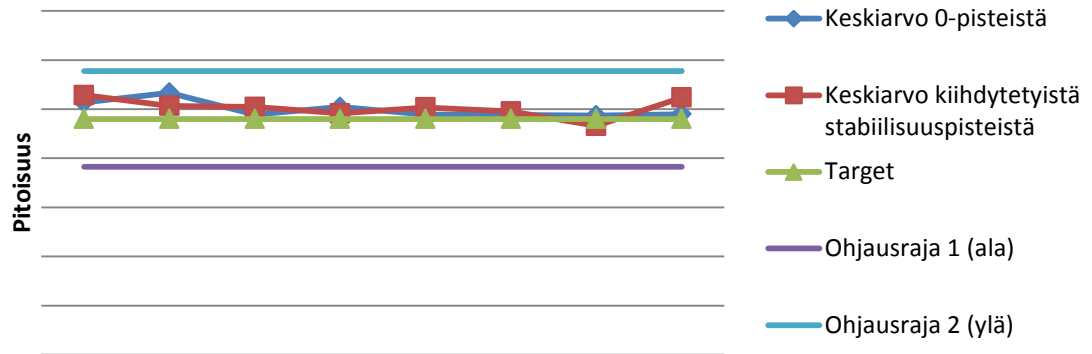


Kuvio 1. Kittikontrolli 1:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat.



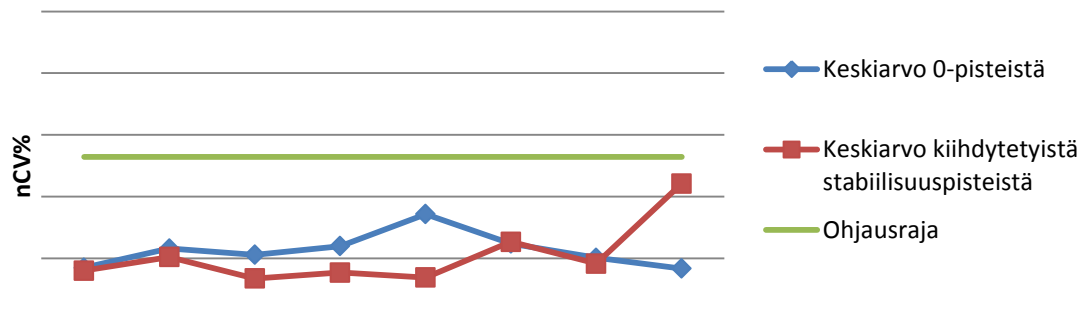
Kuvio 2. Kittikontrolli 2:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat.

Kittikontrolli 3:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat



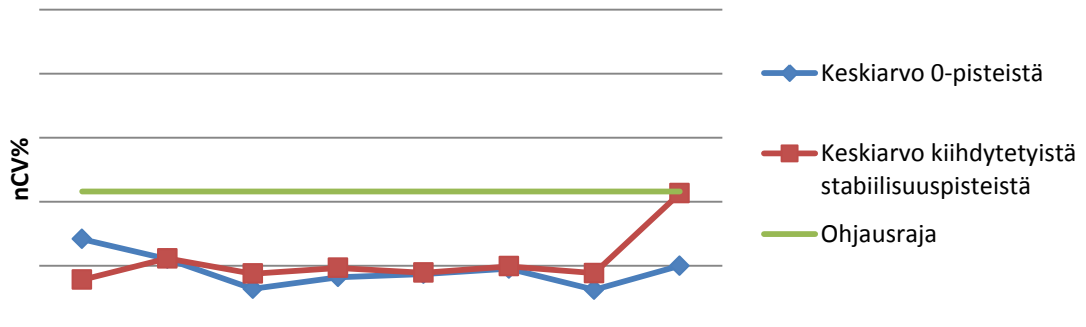
Kuvio 3. Kittikontrolli 3:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat.

Kittikontrolli 1:n levyn sisäinen hajonta (nCV%) ja ohjausraja



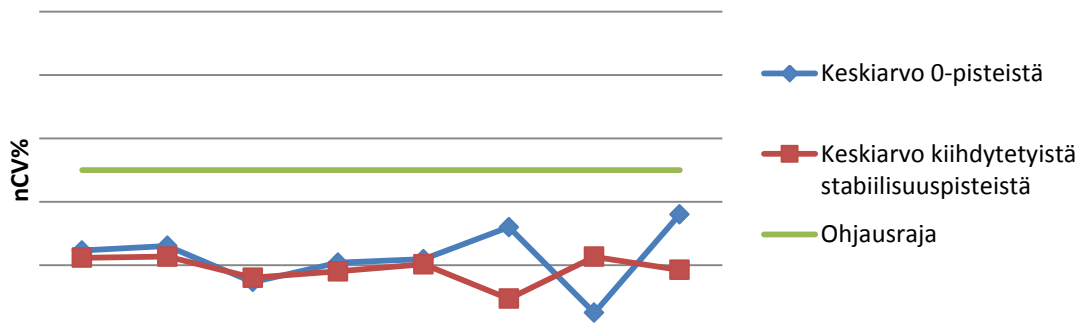
Kuvio 4. Kittikontrolli 1:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kittikontrolli 2:n levyn sisäinen hajonta (nCV%) ja ohjausraja



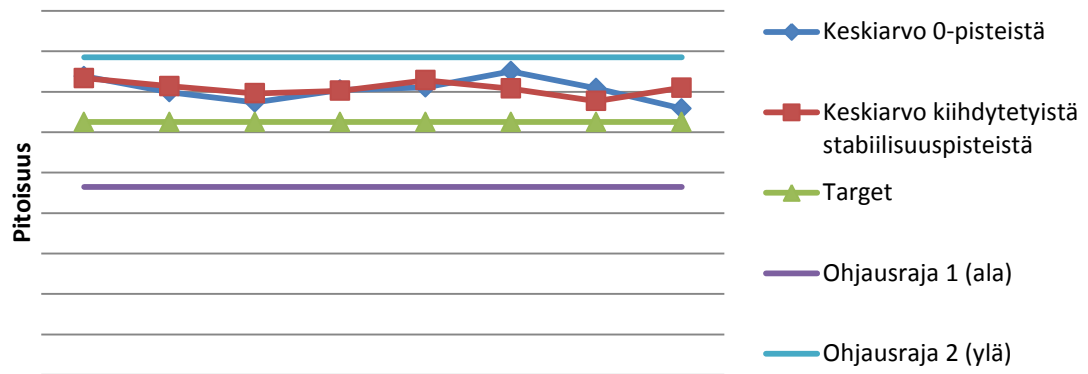
Kuvio 5. Kittikontrolli 2:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kittikontrolli 3:n levyn sisäinen hajonta (nCV%) ja ohjausraja



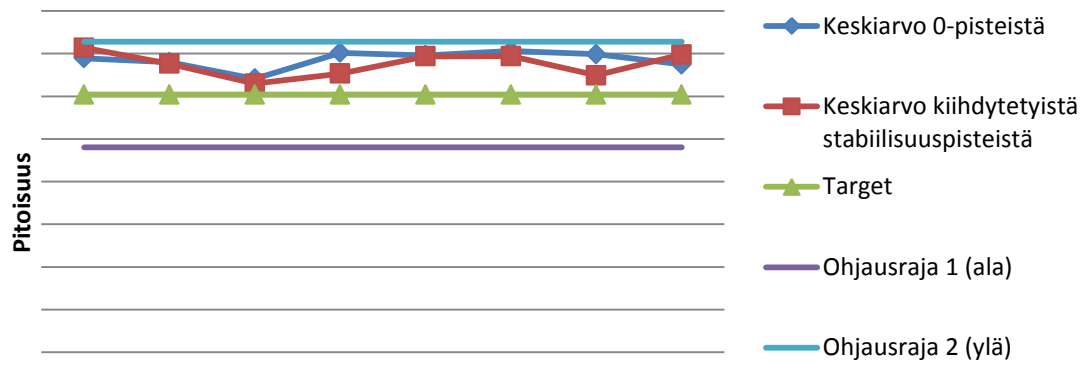
Kuvio 6. Kittikontrolli 3:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kontrolli Q1:n pitoisuuden keskiarvo ja ohjausrajat



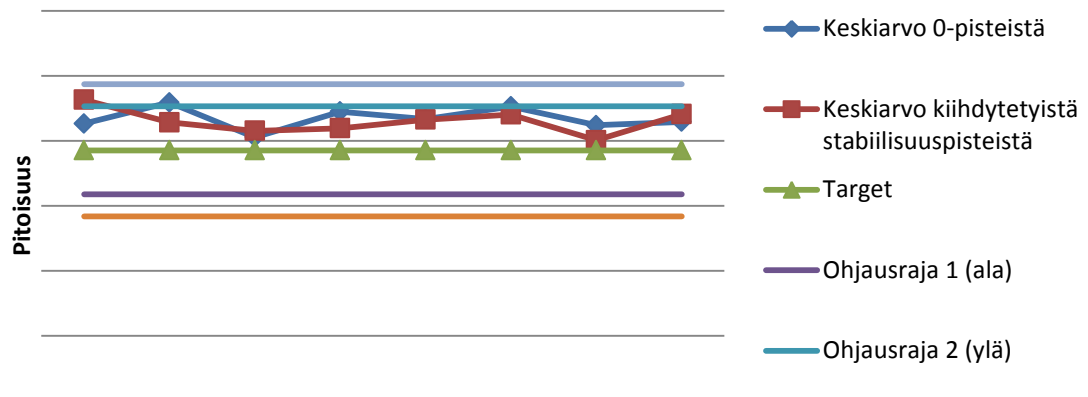
Kuvio 7. Kontrolli Q1:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat.

Kontrolli Q2:n pitoisuuden keskiarvo ja ohjausrajat



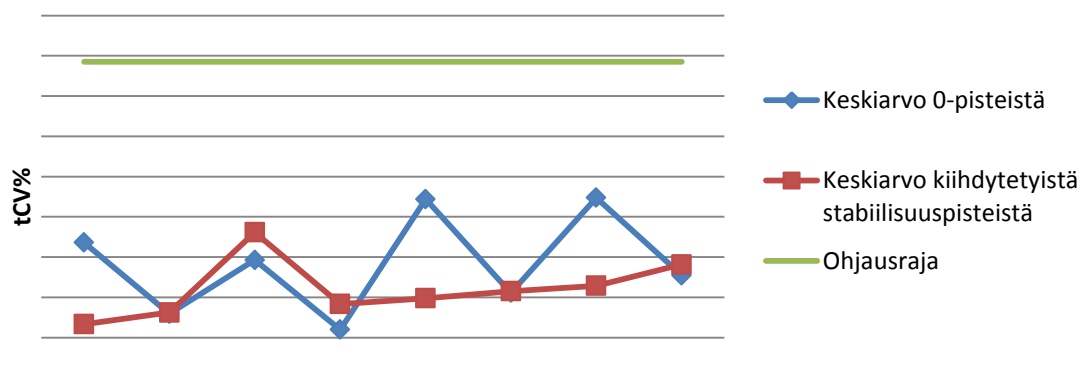
Kuvio 8. Kontrolli Q2:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat.

Kontrolli Q3:n pitoisuuden keskiarvo, ohjaus- ja 95%-rajat



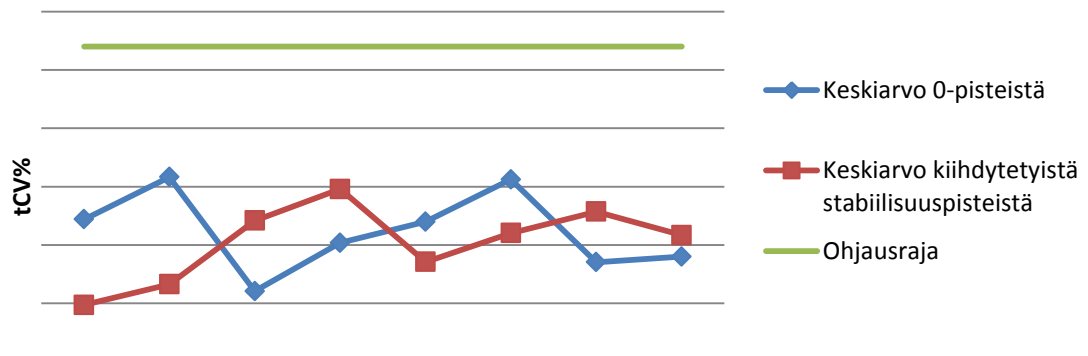
Kuvio 9. Kontrolli Q3:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjaus ja 95 %-rajat.

Kontrolli Q1:n levyn sisäinen hajonta (tCV%) ja ohjausraja



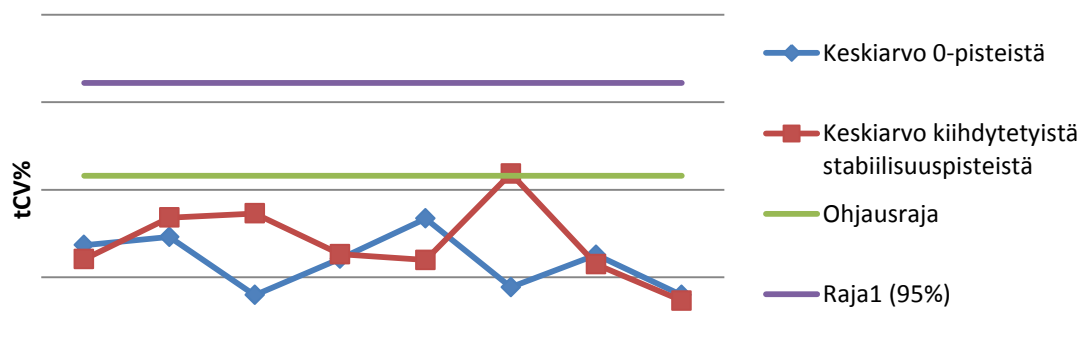
Kuvio 10. Kontrolli Q1:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kontrolli Q2:n levyn sisäinen hajonta (tCV%) ja ohjausraja



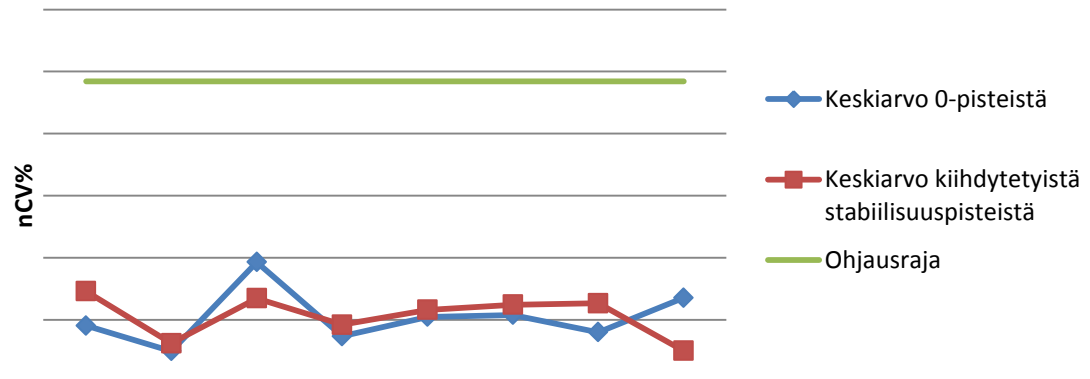
Kuvio 11. Kontrolli Q2:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kontrolli Q3:n levyn sisäinen hajonta (tCV%), ohjaus- ja 95%-rajat



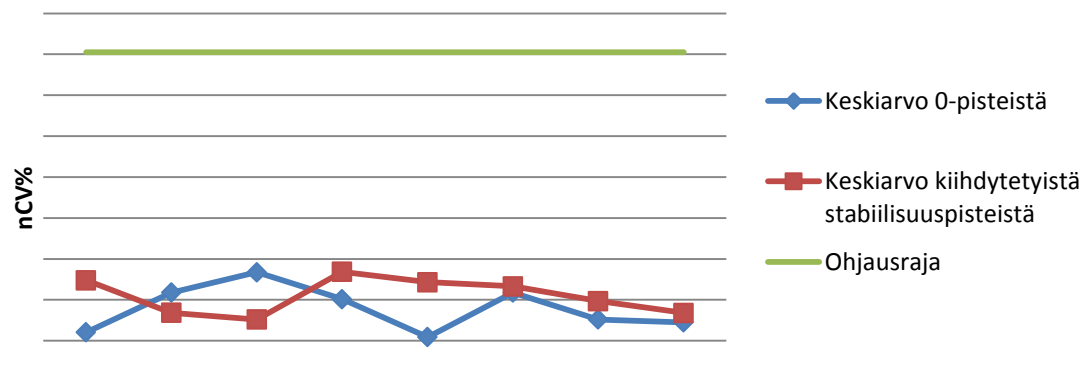
Kuvio 12. Kontrolli Q3:n levyn sisäinen hajonta ja ohjaus- ja 95 %-rajat.

Kittikalibraattori S2:n levyn sisäinen hajonta (nCV%) ja ohjausraja



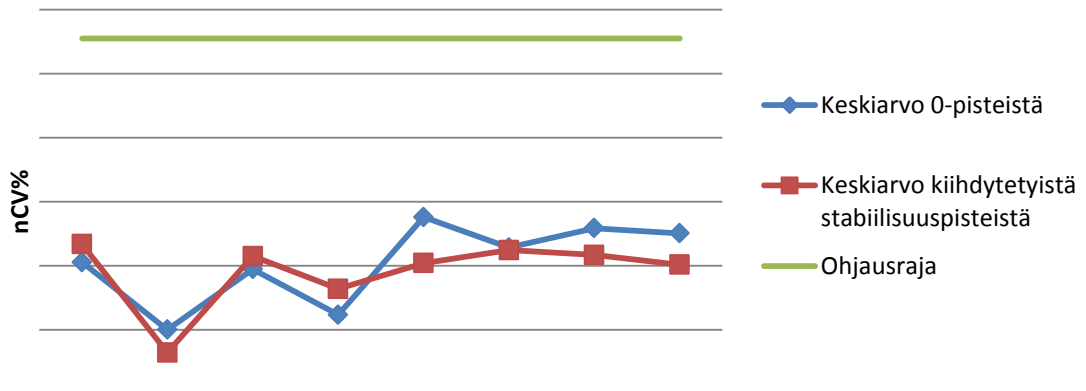
Kuvio 13. Kittikalibraattori S2:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kittikalibraattori S3:n levyn sisäinen hajonta (nCV%) ja ohjausraja



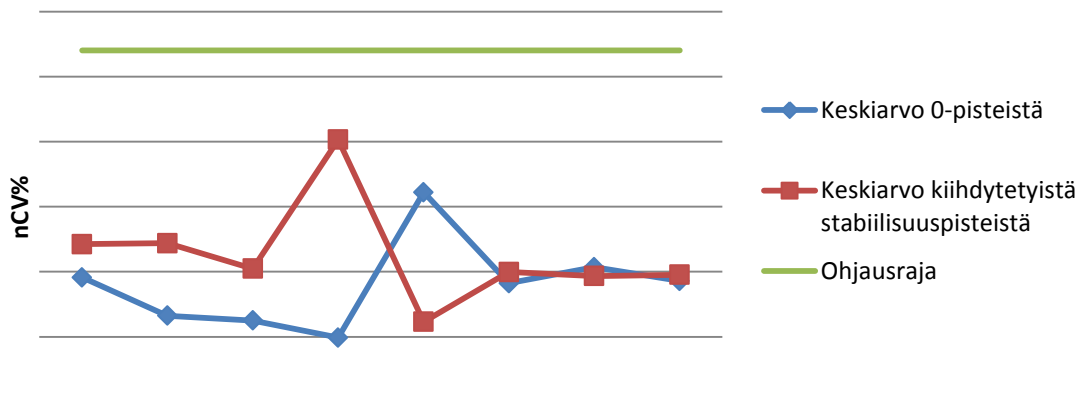
Kuvio 14. Kittikalibraattori S3:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kittikalibraattori S4:n levyn sisäinen hajonta (nCV%) ja ohjausraja



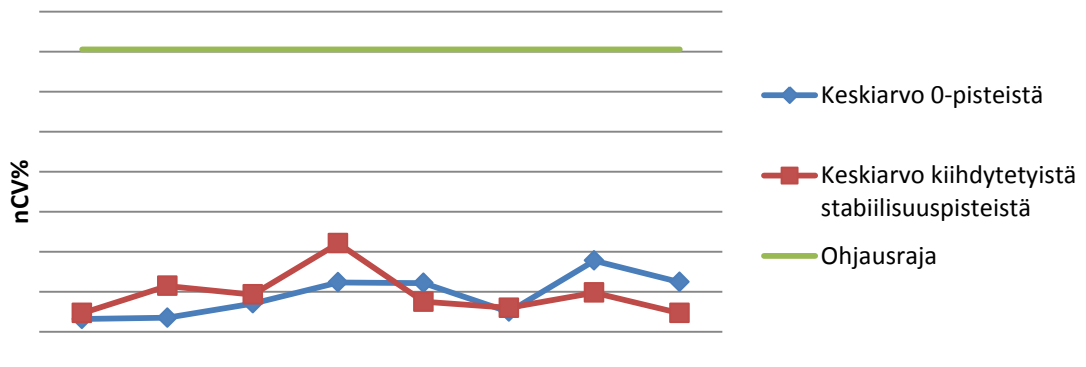
Kuvio 15. Kittikalibraattori S4:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kittikalibraattori S5:n levyn sisäinen hajonta (nCV%) ja ohjausraja



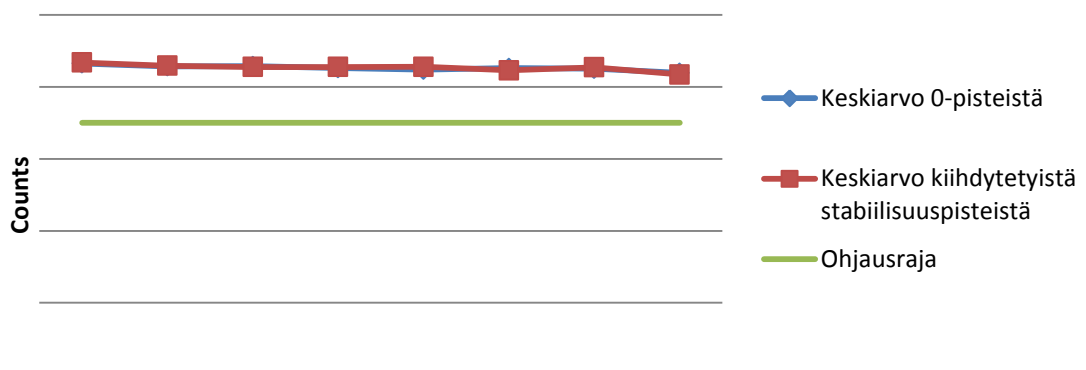
Kuvio 16. Kittikalibraattori S5:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kittikalibraattori S6:n levyn sisäinen hajonta (nCV%) ja ohjausraja



Kuvio 17. Kittikalibraattori S6:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kittikalibraattori S1:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja



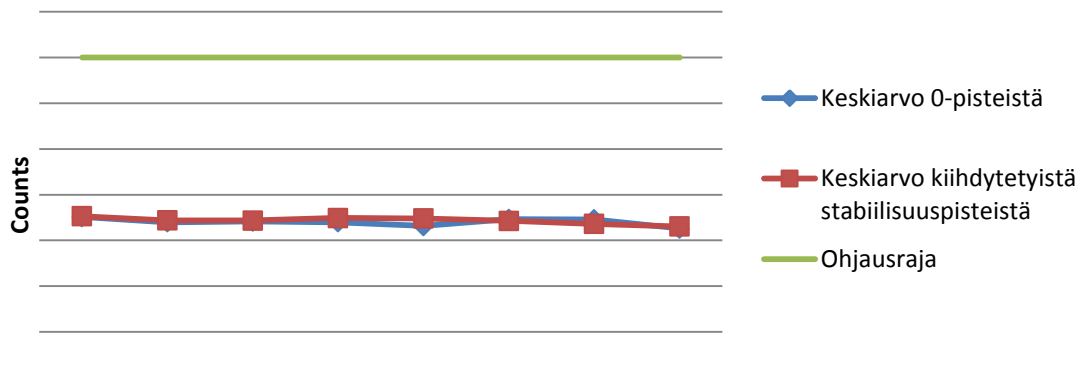
Kuvio 18. Kittikalibraattori S1:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja.

Kittikalibraattori S2:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja



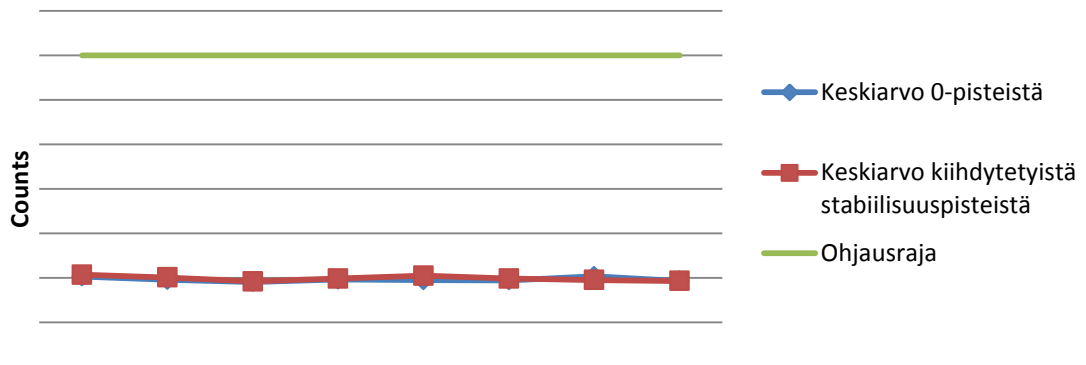
Kuvio 19. Kittikalibraattori S2:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja.

Kittikalibraattori S3:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja



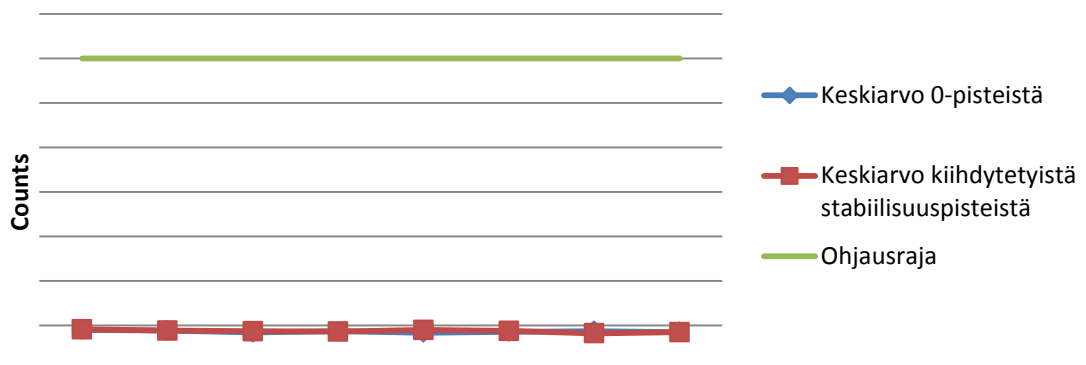
Kuvio 20. Kittikalibraattori S3:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja.

Kittikalibraattori S4:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja

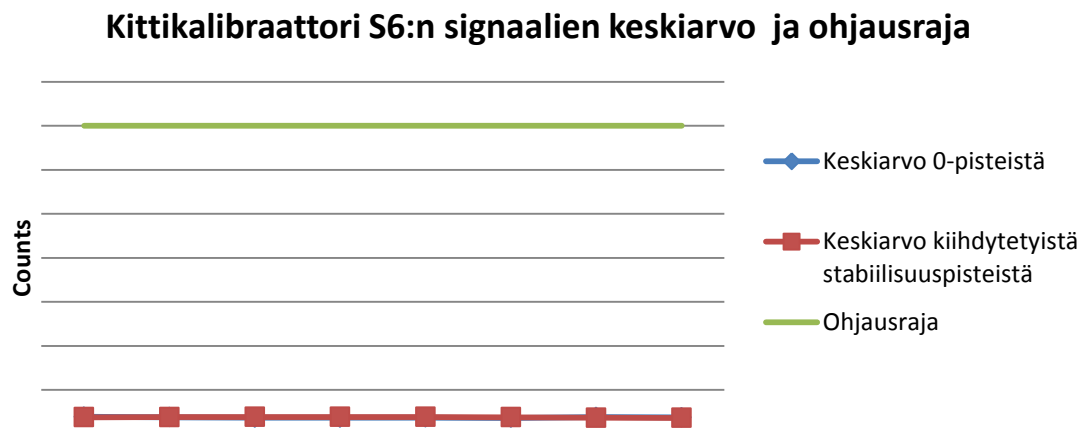


Kuvio 21. Kittikalibraattori S4:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja.

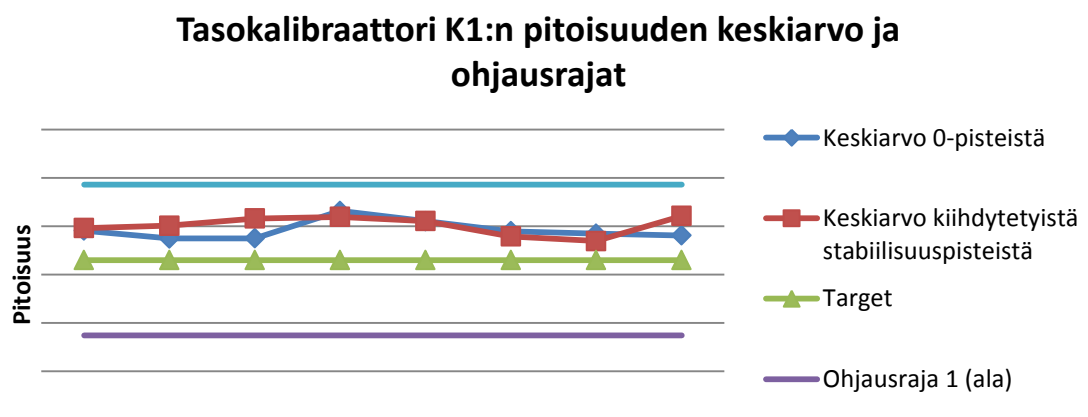
Kittikalibraattori S5:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja



Kuvio 22. Kittikalibraattori S5:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja.

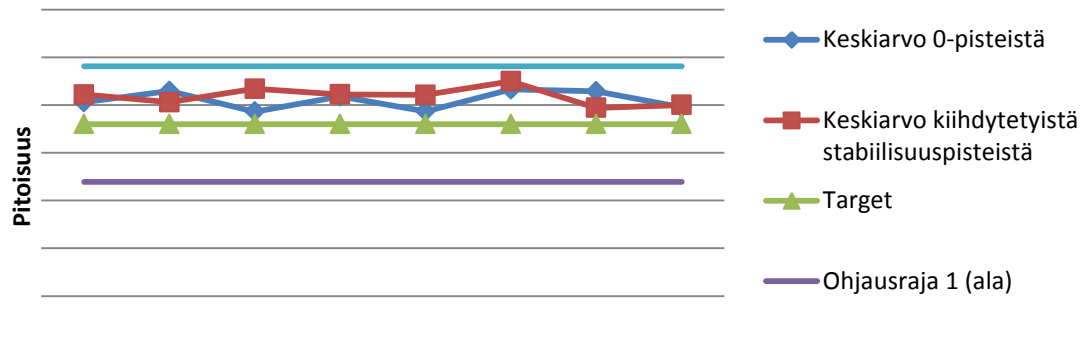


Kuvio 23. Kittikalibraattori S6:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja.



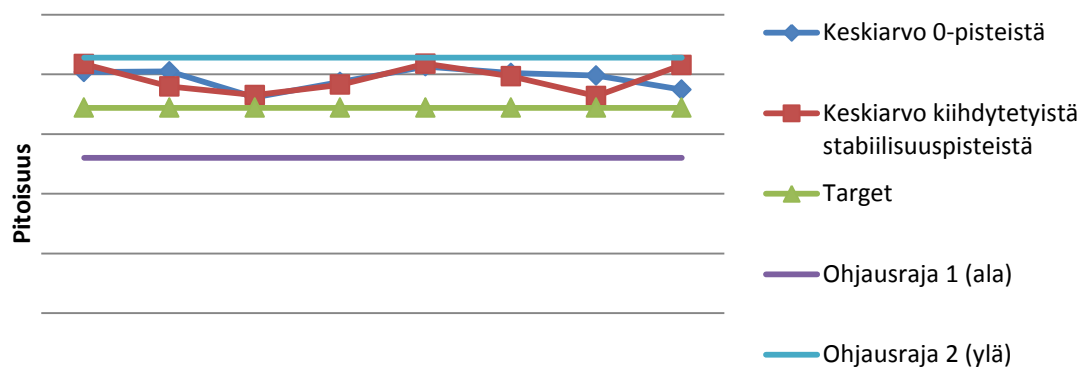
Kuvio 24. Tasokalibraattori K1:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat.

Tasokalibraattori K2:n pitoisuuden keskiarvo ja ohjausrajat



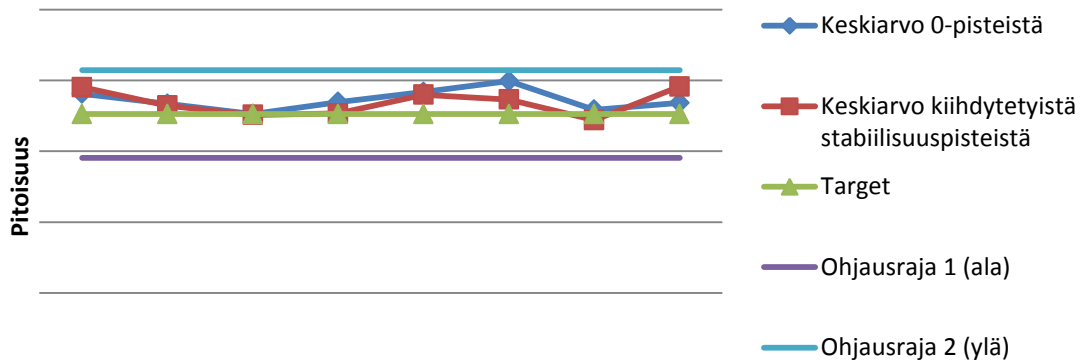
Kuvio 25. Tasokalibraattori K2:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat.

Tasokalibraattori K3:n pitoisuuden keskiarvo ja ohjausrajat



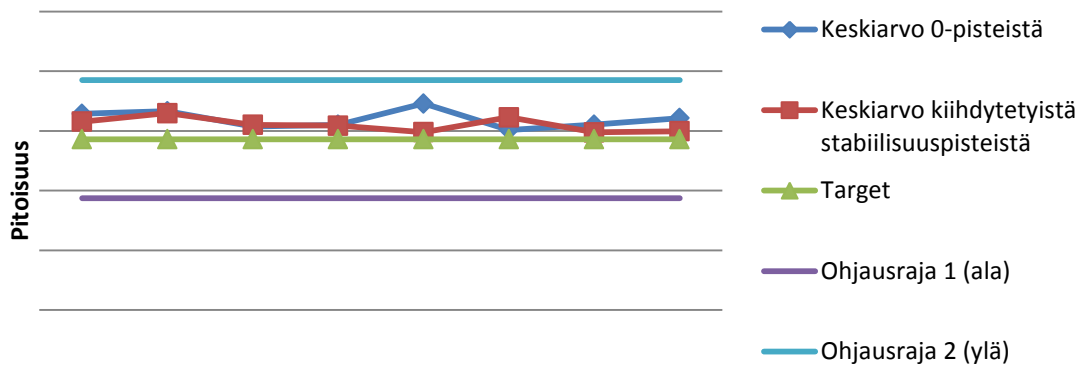
Kuvio 26. Tasokalibraattori K3:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat.

Tasokalibraattori K4:n pitoisuuden keskiarvo ja ohjausrajat



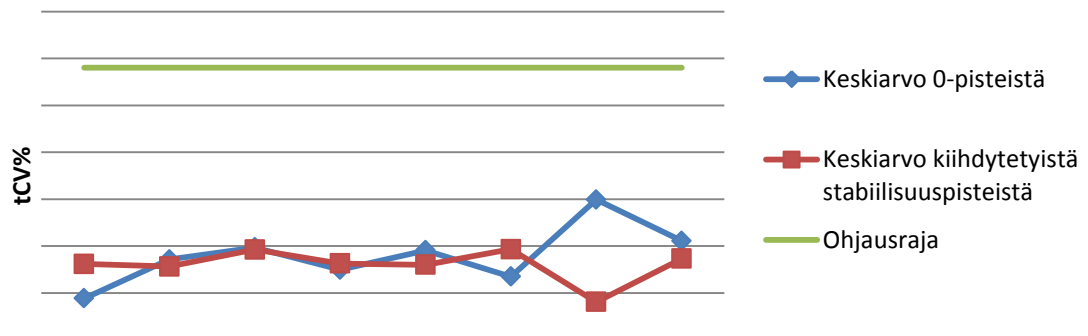
Kuvio 27. Tasokalibraattori K4:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat.

Tasokalibraattori K5:n pitoisuuden keskiarvo ja ohjausrajat



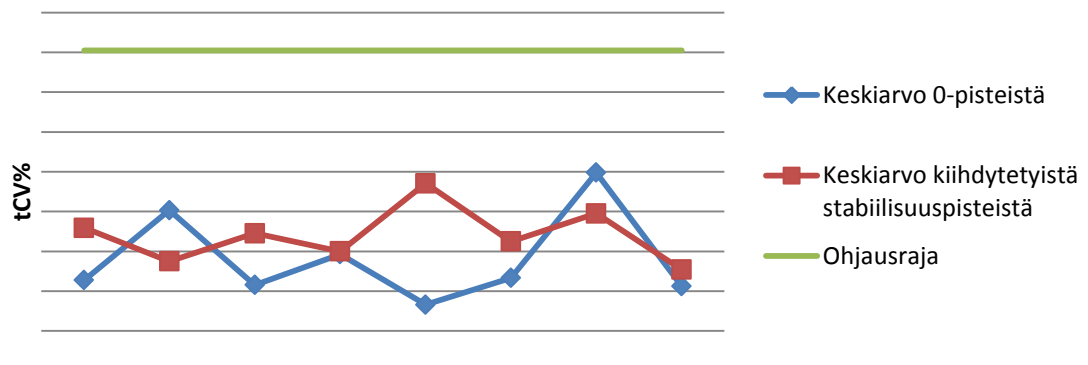
Kuvio 28. Tasokalibraattori K5:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat.

Tasokalibraattori K1:n levyn sisäinen hajonta (tCV%) ja ohjausraja



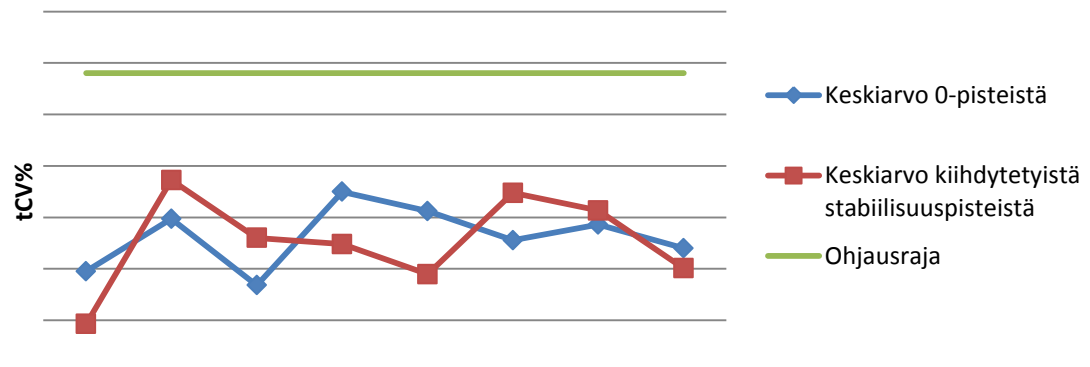
Kuvio 29. Tasokalibraattori K1:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Tasokalibraattori K2:n levyn sisäinen hajonta (tCV%) ja ohjausraja



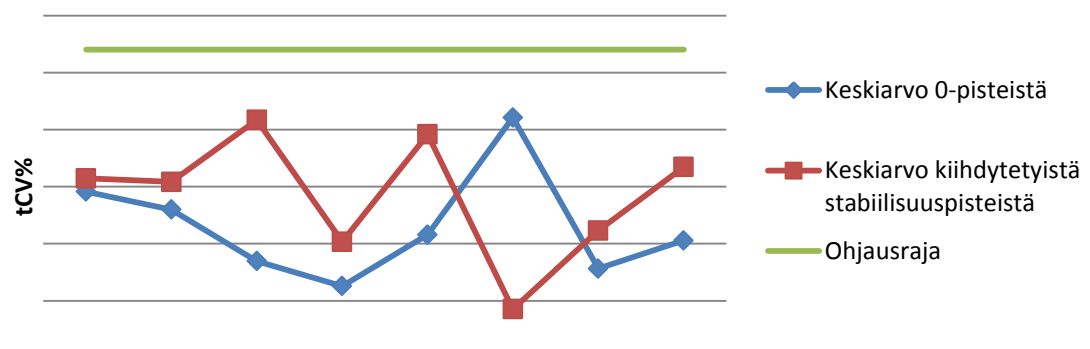
Kuvio 30. Tasokalibraattori K2:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Tasokalibraattori K3:n levyn sisäinen hajonta (tCV%) ja ohjausraja



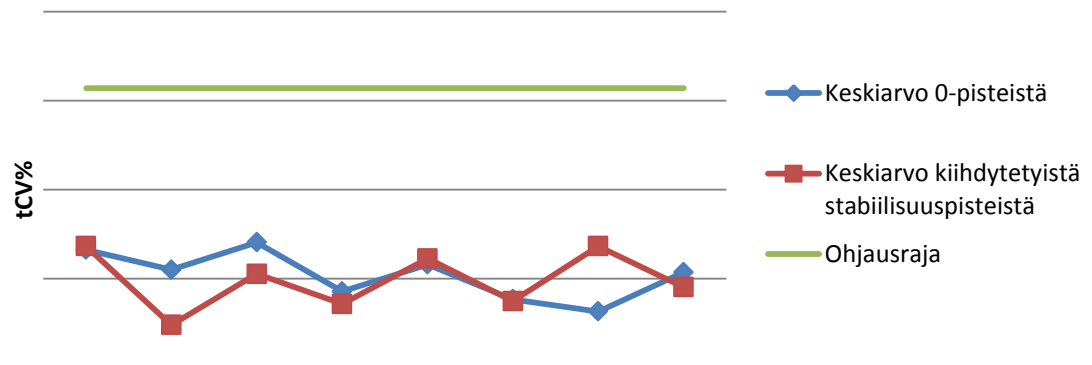
Kuvio 31. Tasokalibraattori K3:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Tasokalibraattori K4:n levyn sisäinen hajonta (tCV%) ja ohjausraja



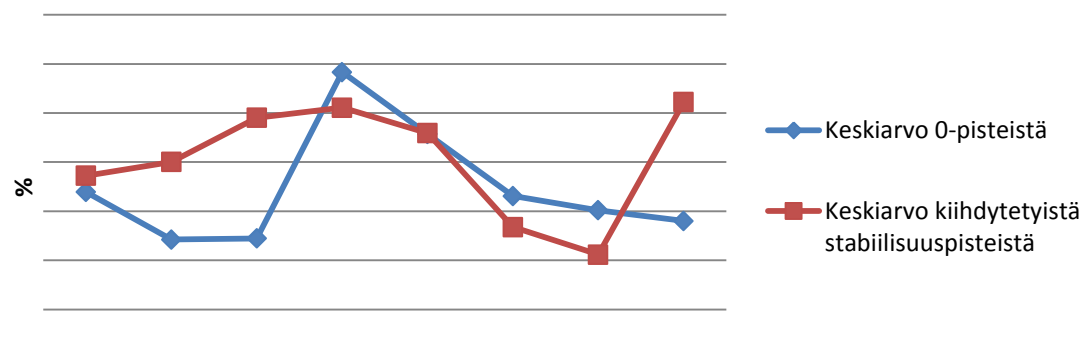
Kuvio 32. Tasokalibraattori K4:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Tasokalibraattori K5:n levyn sisäinen hajonta (tCV%) ja ohjausraja

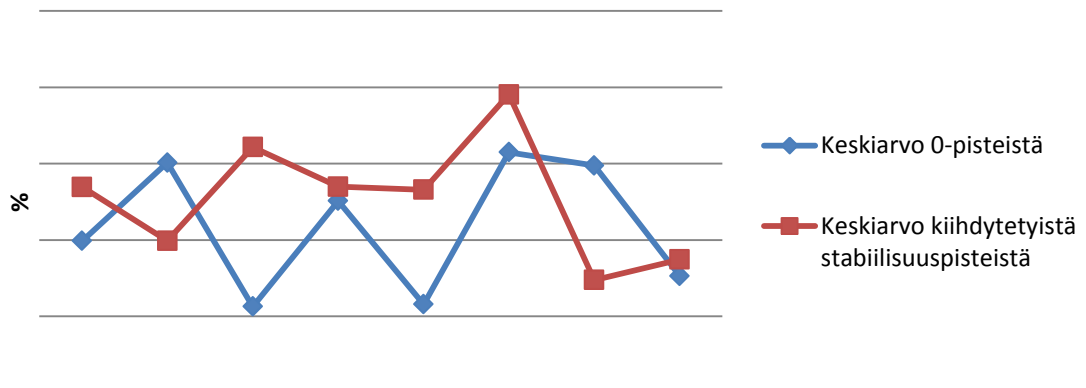


Kuvio 33. Tasokalibraattori K5:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

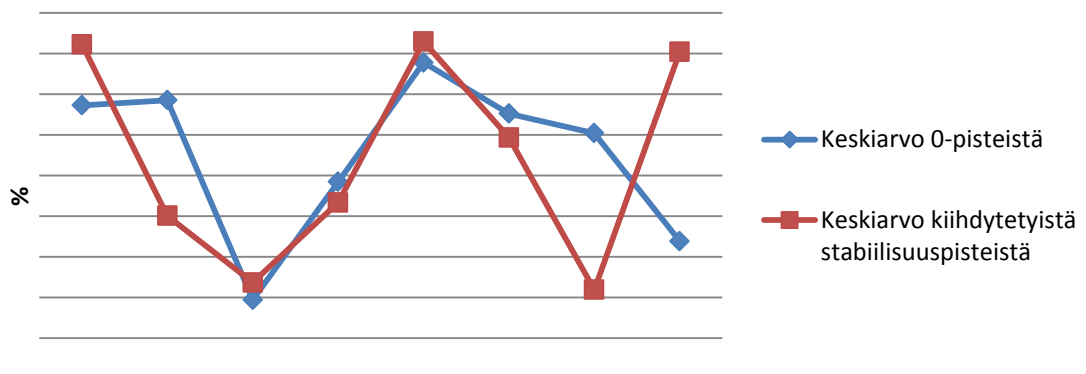
Tasokalibraattori K1:n ero targetista %



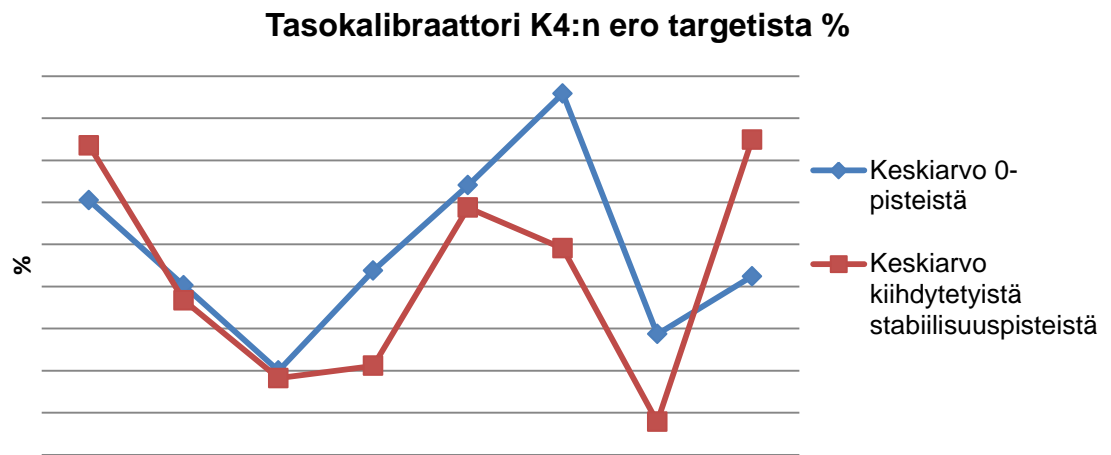
Kuvio 34. Tasokalibraattori K1:n ero targetista %.

Tasokalibraattori K2:n ero targetista %

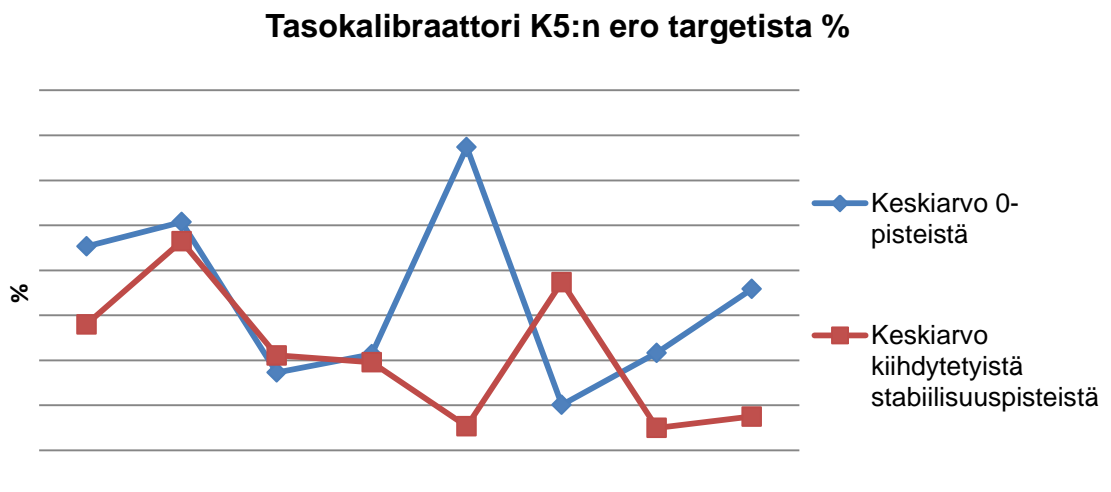
Kuvio 35. Tasokalibraattori K2:n ero targetista %.

Tasokalibraattori K3:n ero targetista %

Kuvio 36. Tasokalibraattori K3:n ero targetista %.



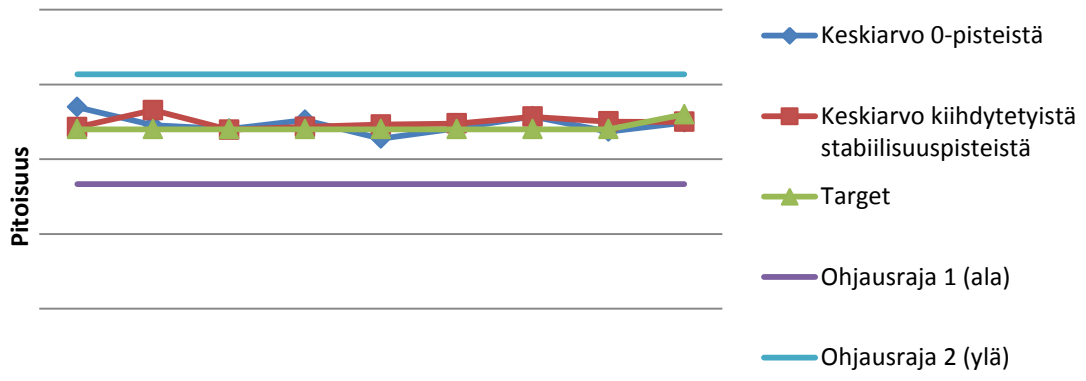
Kuvio 37. Tasokalibraattori K4:n ero targetista %.



Kuvio 38. Tasokalibraattori K5:n ero targetista %.

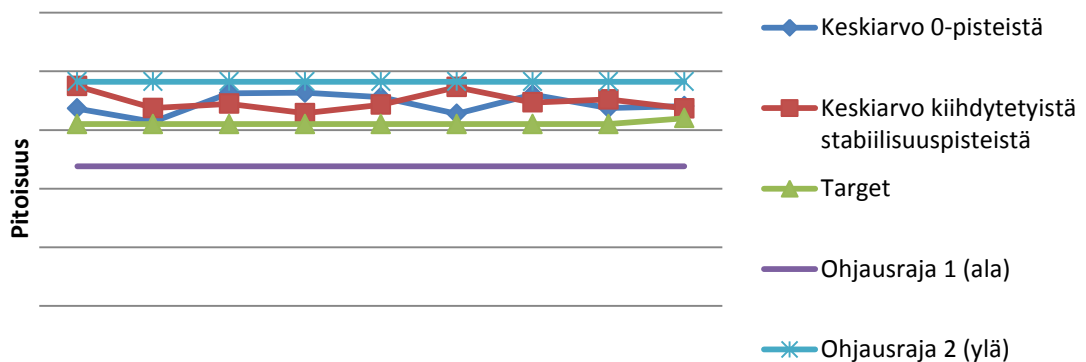
Kombinaattitestit vaiheessa 2.

Kittikontrolli 1:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat



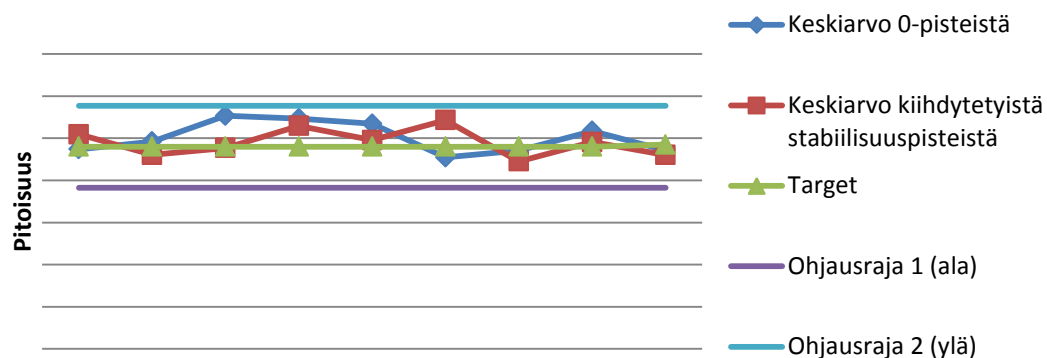
Kuvio 1. Kittikontrolli 1:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat.

Kittikontrolli 2:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat



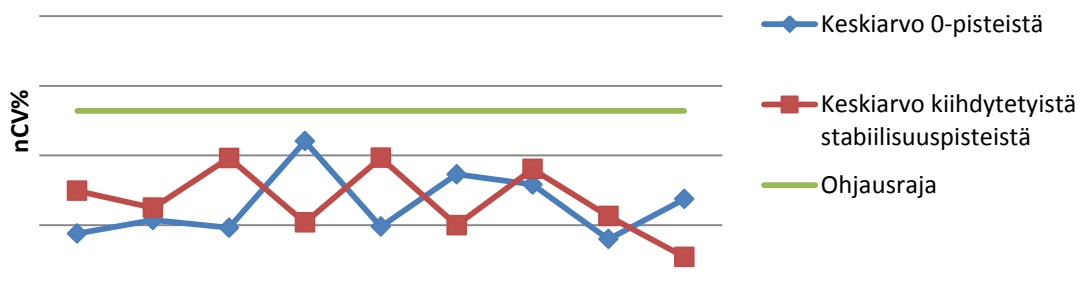
Kuvio 2. Kittikontrolli 2:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat.

Kittikontrolli 3:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat



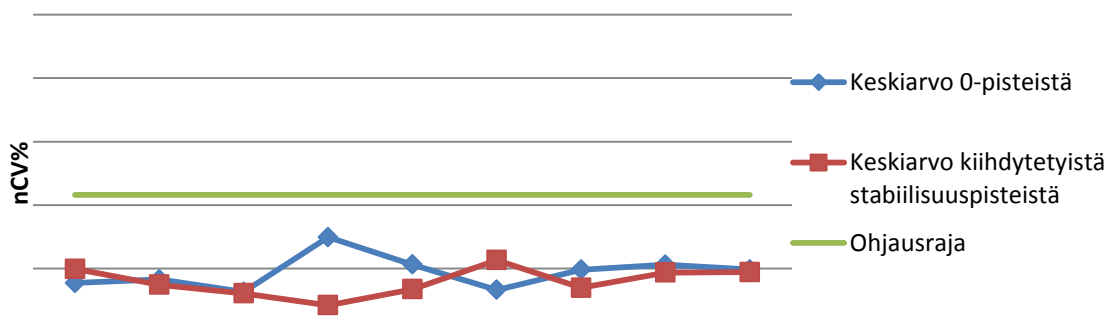
Kuvio 3. Kittikontrolli 3:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat.

Kittikontrolli 1:n levyn sisäinen hajonta (nCV%) ja ohjausraja



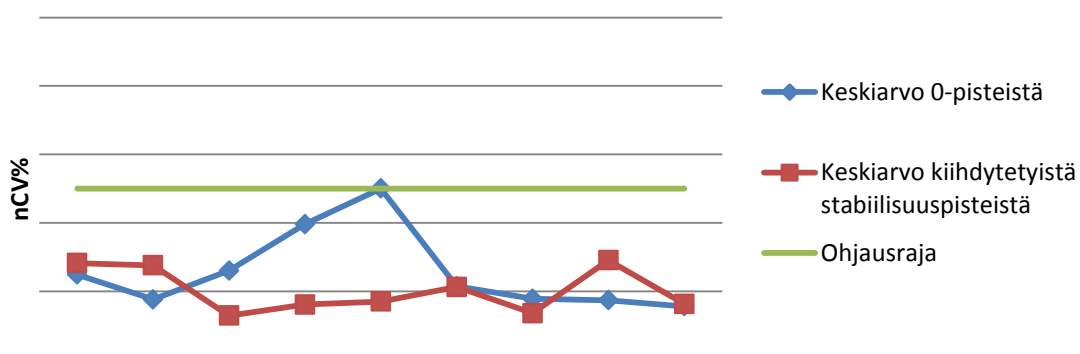
Kuvio 4. Kittikontrolli 1:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kittikontrolli 2:n levyn sisäinen hajonta (nCV%) ja ohjausraja



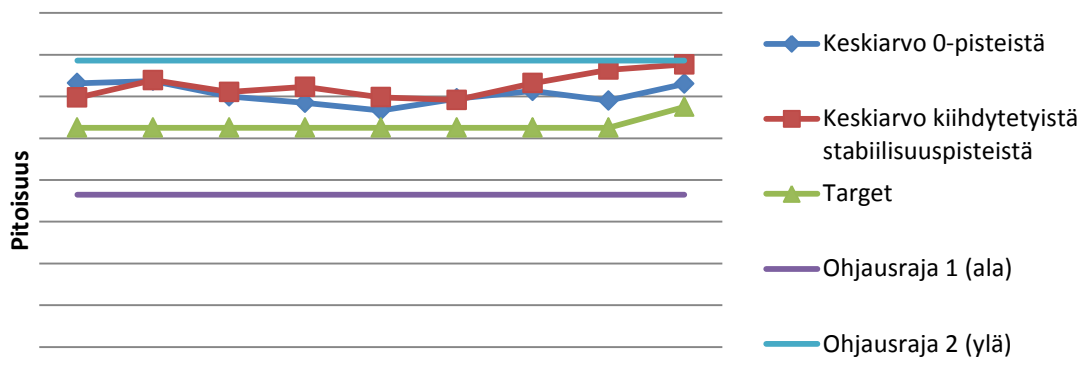
Kuvio 5. Kittikontrolli 2:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kittikontrolli 3:n levyn sisäinen hajonta (nCV%) ja ohjausraja



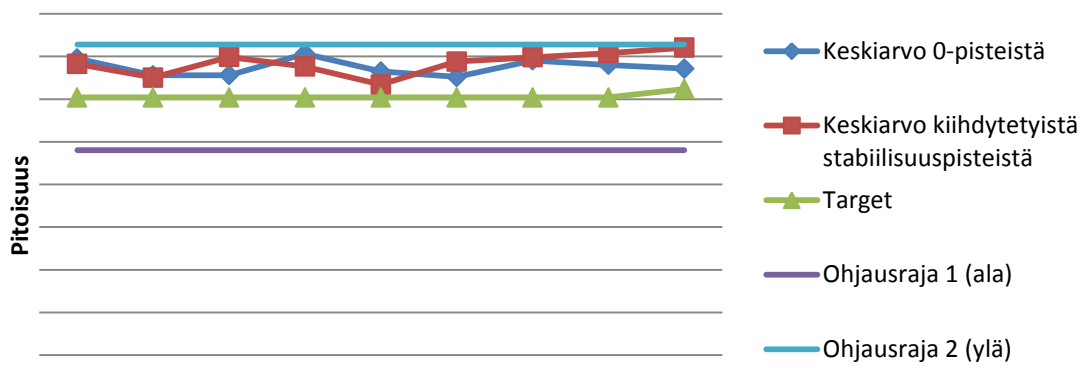
Kuvio 6. Kittikontrolli 3:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kontrolli Q1:n pitoisuuden keskiarvo ja ohjausrajat



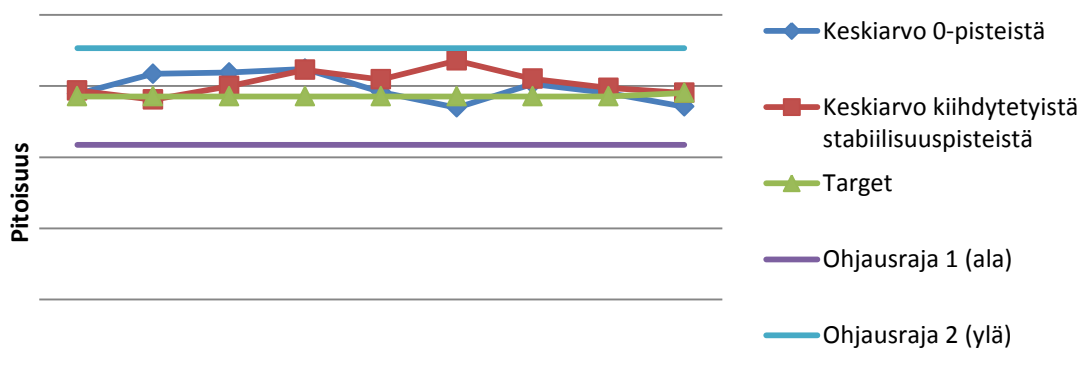
Kuvio 7. Kontrolli Q1:n pitoisuuden keskiarvo ja ohjausrajat.

Kontrolli Q2:n pitoisuuden keskiarvo ja ohjausrajat



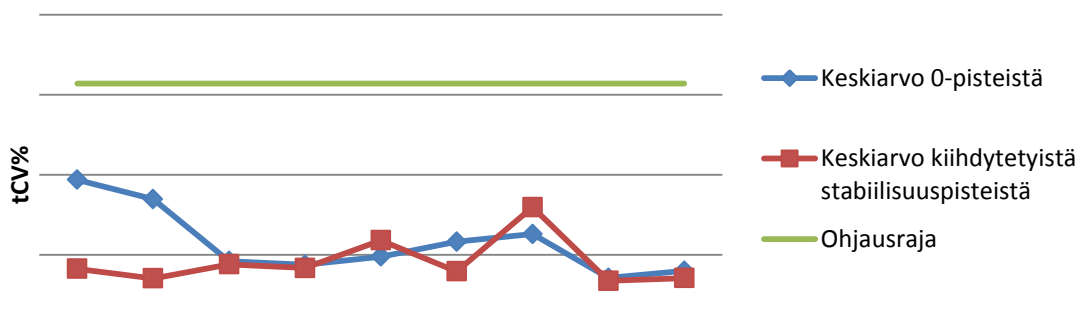
Kuvio 8. Kontrolli Q2:n pitoisuuden keskiarvo ja ohjausrajat.

Kontrolli Q3:n pitoisuuden keskiarvo ja ohjausrajat



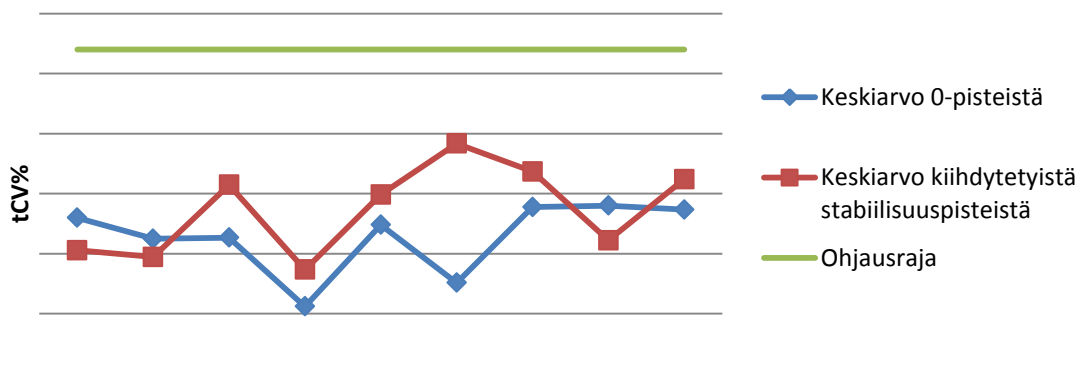
Kuvio 9. Kontrolli Q3:n pitoisuuden keskiarvo ja ohjausrajat.

Kontrolli Q1:n levyn sisäinen hajonta (tCV%) ja ohjausraja



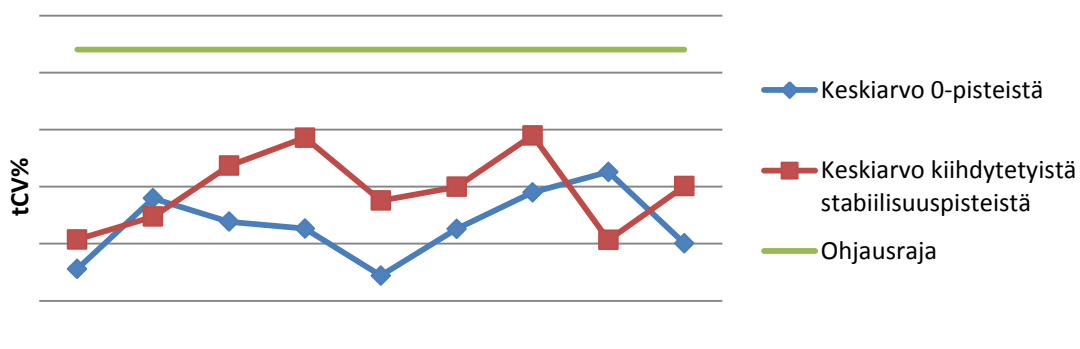
Kuvio 10. Kontrolli Q1:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kontrolli Q2:n levyn sisäinen hajonta (tCV%) ja ohjausraja



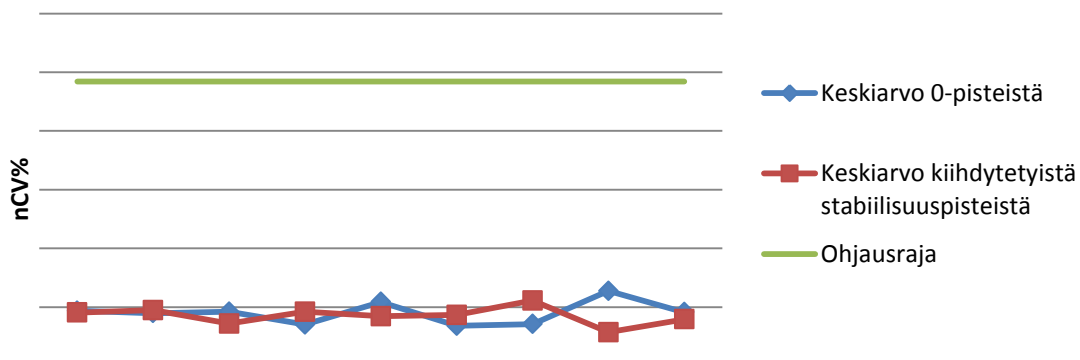
Kuvio 11. Kontrolli Q2:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kontrolli Q3:n levyn sisäinen hajonta (tCV%) ja ohjausraja



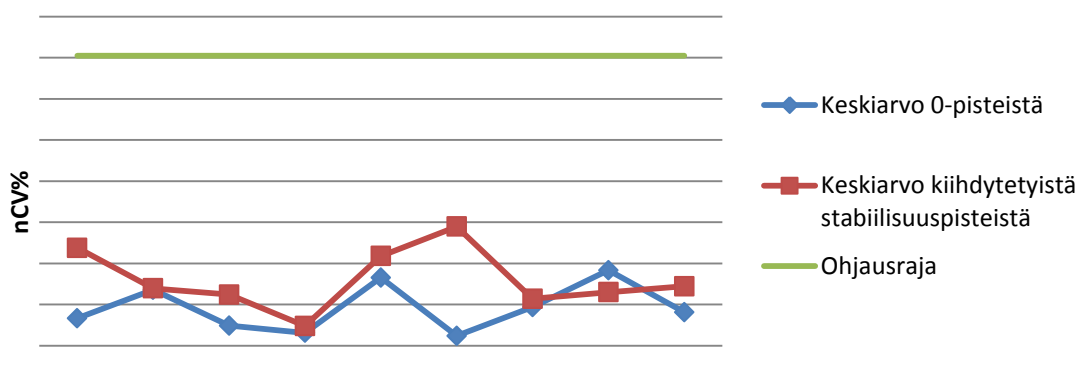
Kuvio 12. Kontrolli Q3:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kittikalibraattori S2:n levyn sisäinen hajonta (nCV%) ja ohjausraja



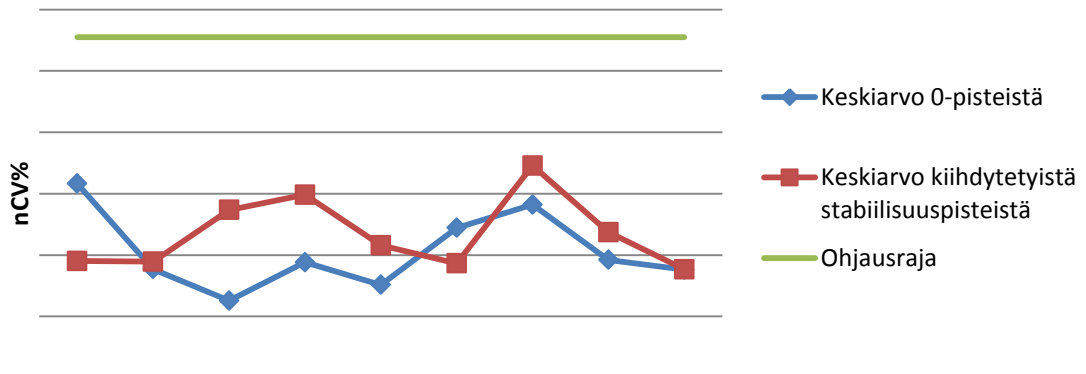
Kuvio 13. Kittikalibraattori S2:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kittikalibraattori S3:n levyn sisäinen hajonta (nCV%) ja ohjausraja



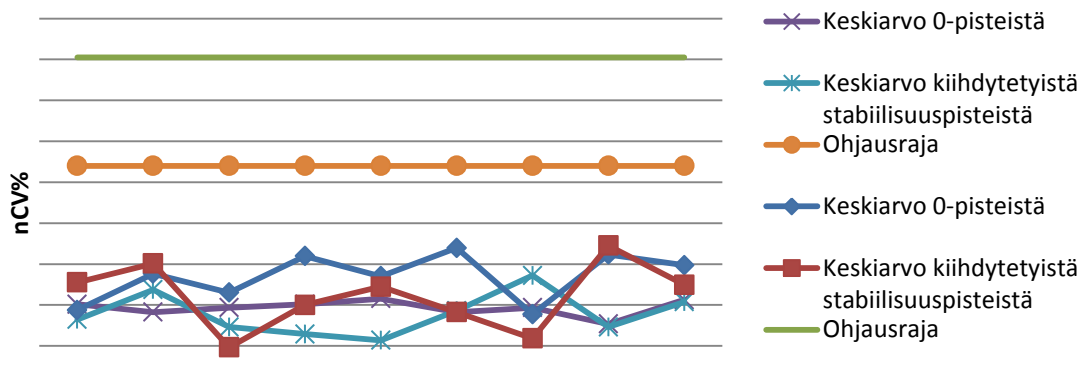
Kuvio 14. Kittikalibraattori S3:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kittikalibraattori S4:n levyn sisäinen hajonta (nCV%) ja ohjausraja



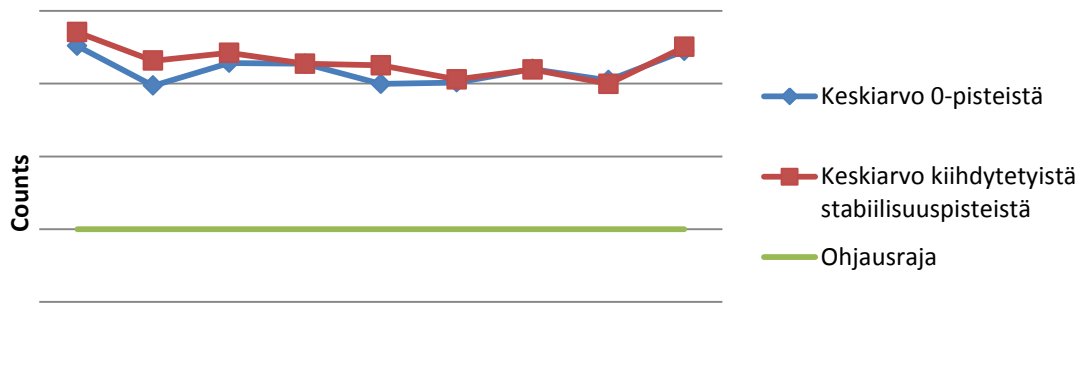
Kuvio 15. Kittikalibraattori S4:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kittikalibraattori S6:n levyn sisäinen hajonta (nCV%) ja ohjausraja



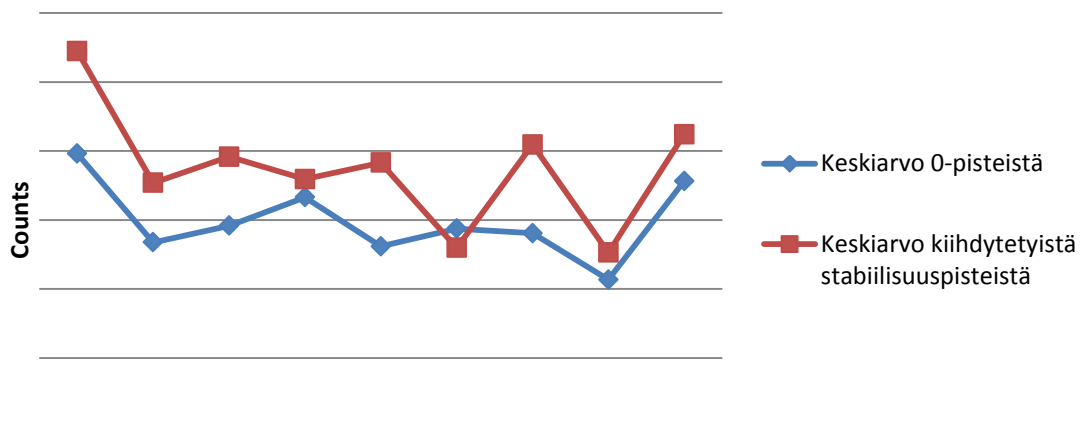
Kuvio 16. Kittikalibraattori S6:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Kittikalibraattori S1:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja



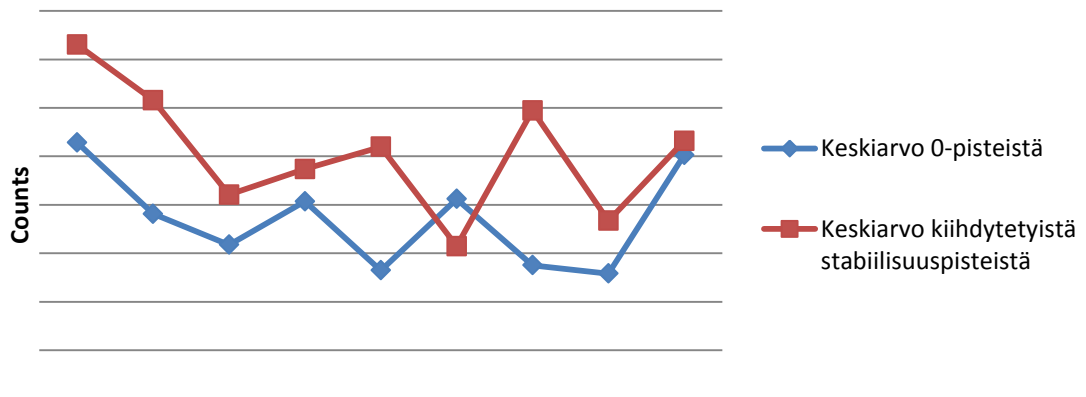
Kuvio 17. Kittikalibraattori S1:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja.

Kittikalibraattori S2:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja



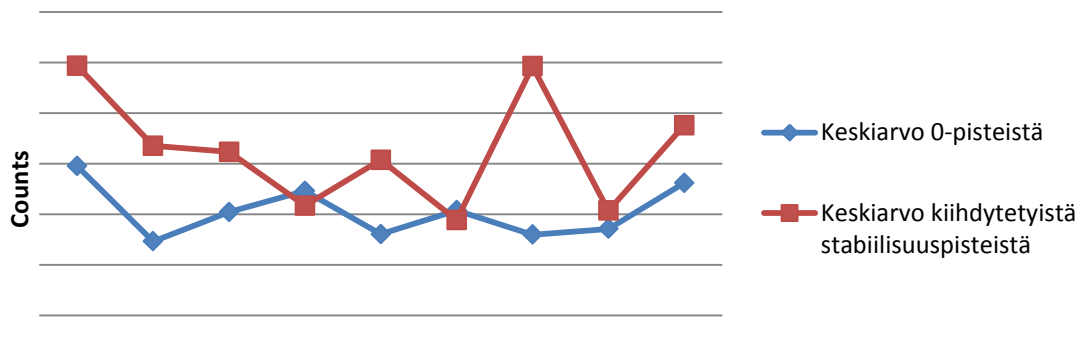
Kuvio 18. Kittikalibraattori S2:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja.

Kittikalibraattori S3:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja



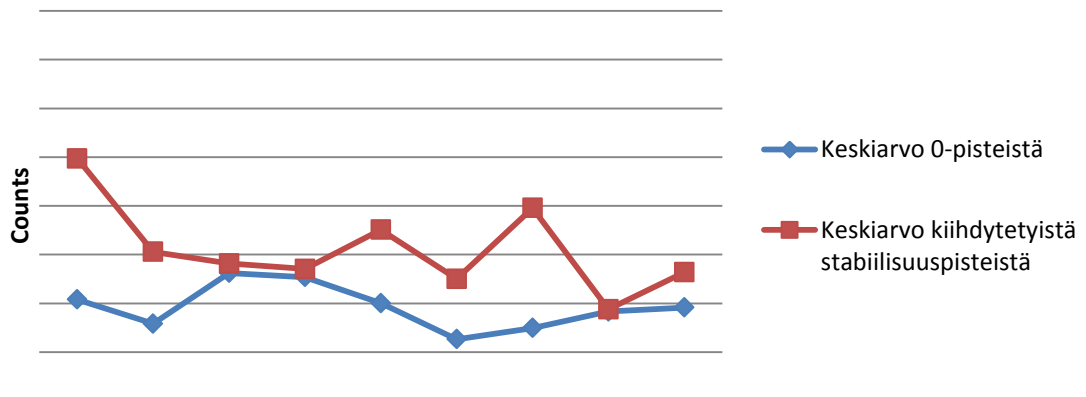
Kuvio 19. Kittikalibraattori S3:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja.

Kittikalibraattori S4:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja



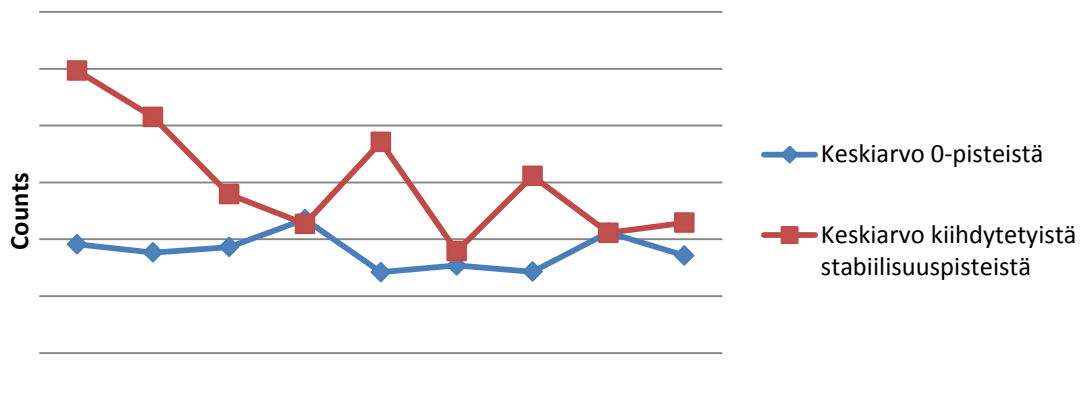
Kuvio 20. Kittikalibraattori S4:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja.

Kittikalibraattori S5:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja



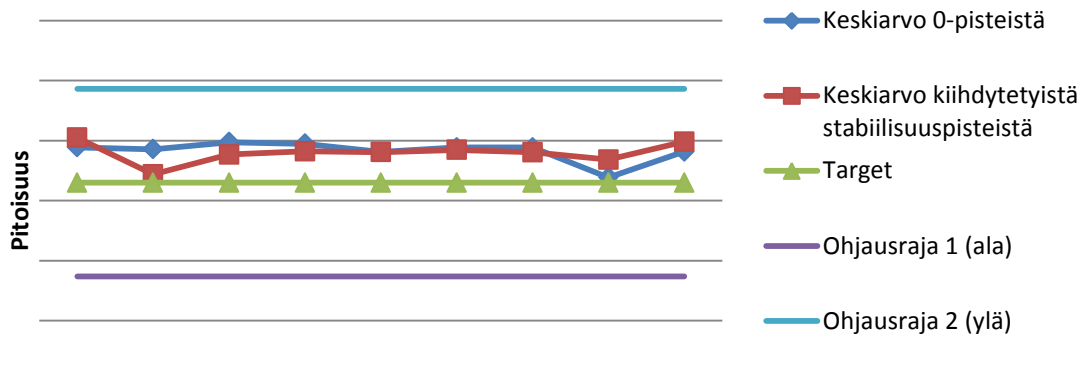
Kuvio 21. Kittikalibraattori S5:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja.

Kittikalibraattori S6:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja



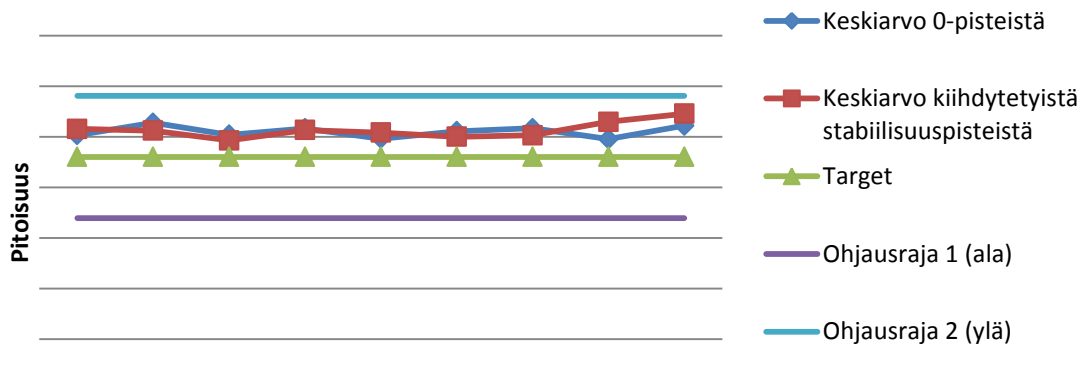
Kuvio 22. Kittikalibraattori S6:n signaalien keskiarvo ja ohjausraja.

Tasokalkibraattori K1:n pitoisuuden keskiarvo ja ohjausrajat



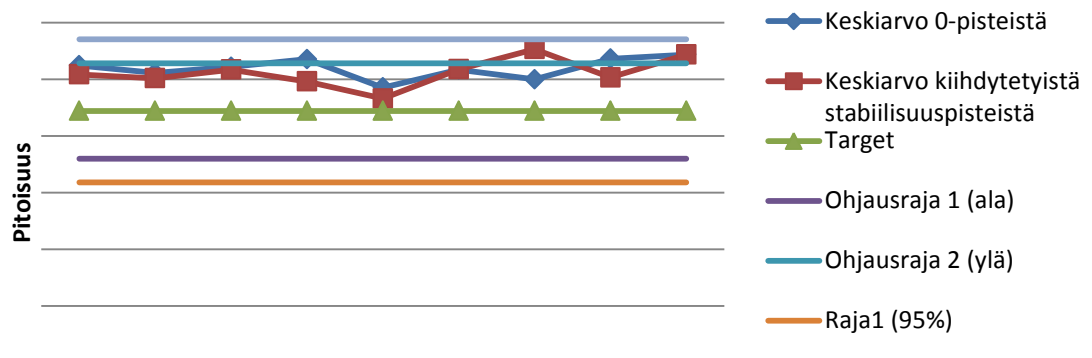
Kuvio 23. Tasokalkibraattori K1:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat.

Tasokalkibraattori K2:n pitoisuuden keskiarvo ja ohjausrajat



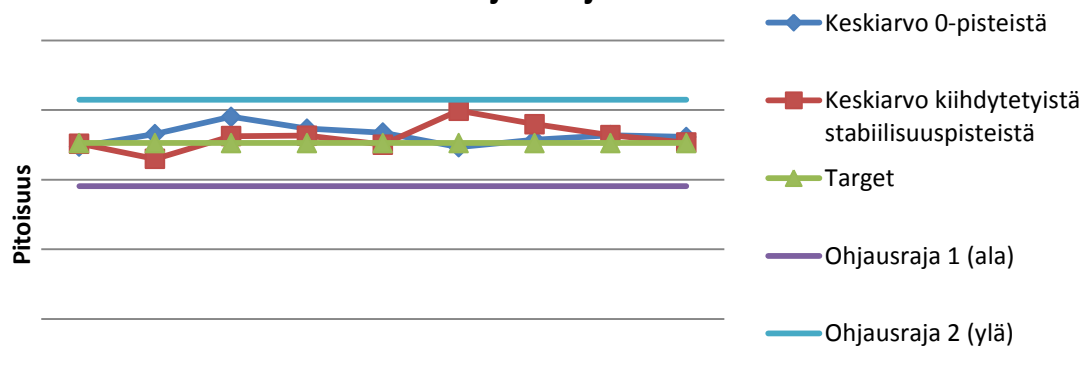
Kuvio 24. Tasokalkibraattori K2:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat.

Tasokalibraattori K3:n pitoisuuden keskiarvo, ohjaus- ja 95%-rajat



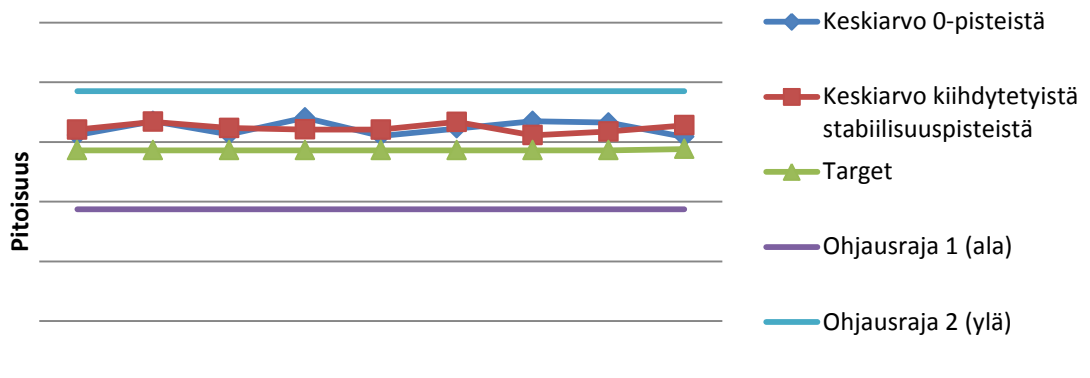
Kuvio 25. Tasokalibraattori K3:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat.

Tasokalibraattori K4:n pitoisuuden keskiarvo ja ohjausrajat



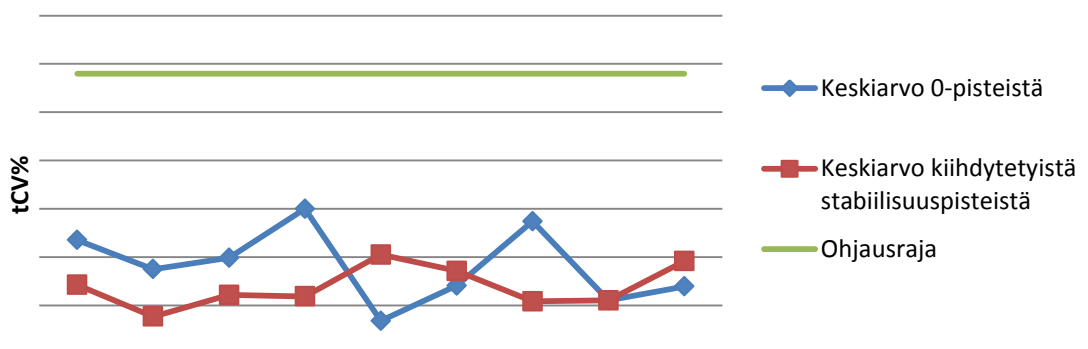
Kuvio 26. Tasokalibraattori K4:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat.

Tasokalibraattori K5:n pitoisuuden keskiarvo ja ohjausrajat



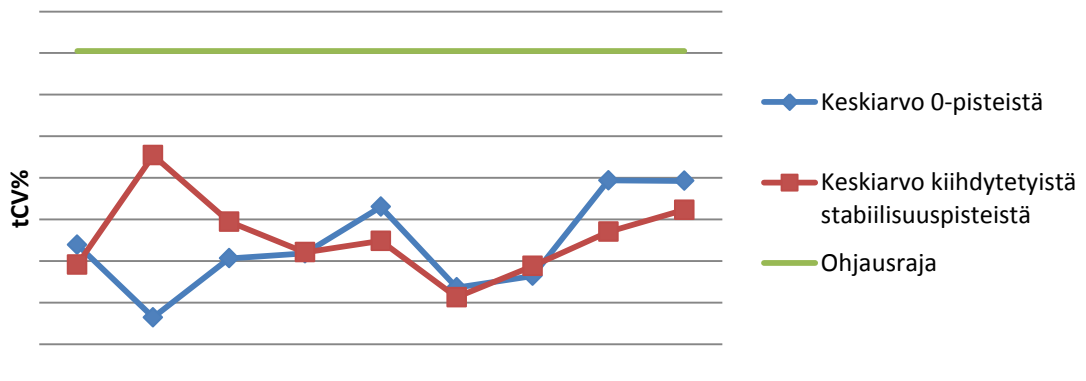
Kuvio 27. Tasokalibraattori K5:n pitoisuuksien keskiarvo ja ohjausrajat.

Tasokalibraattori K1:n levyn sisäinen hajonta (tCV%) ja ohjausraja



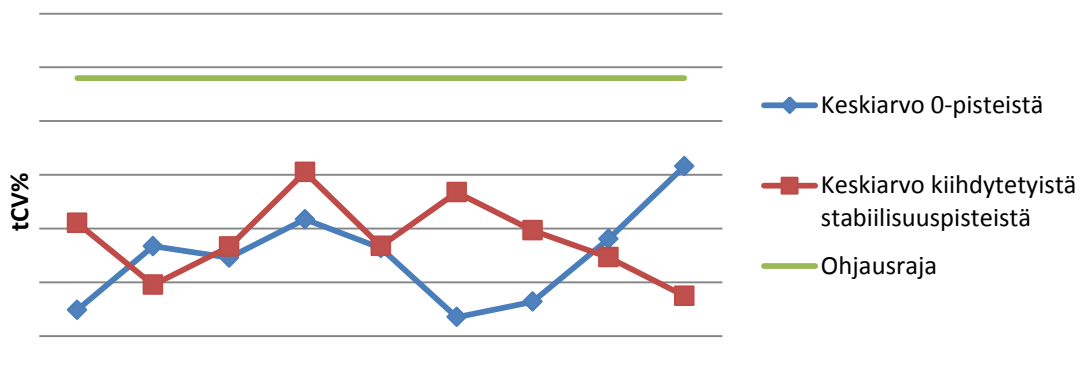
Kuvio 28. Tasokalibraattori K1:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Tasokalibraattori K2:n levyn sisäinen hajonta (tCV%) ja ohjausraja



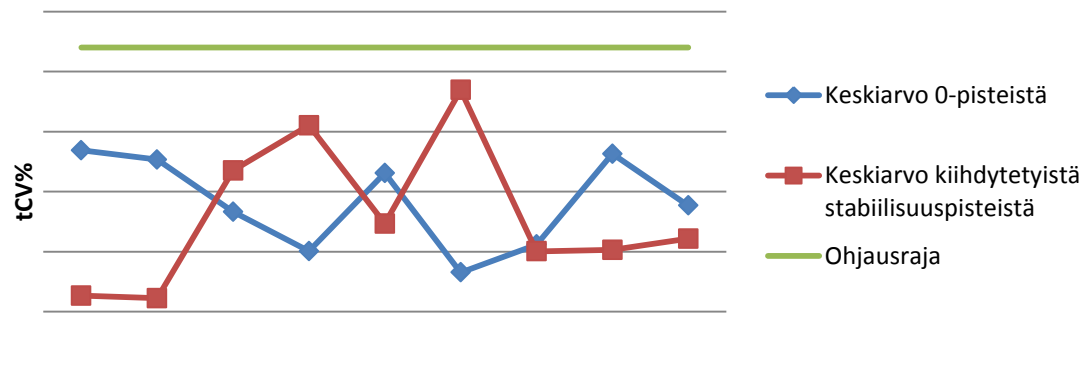
Kuvio 29. Tasokalibraattori K2:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Tasokalibraattori K3:n levyn sisäinen hajonta (tCV%) ja ohjausraja



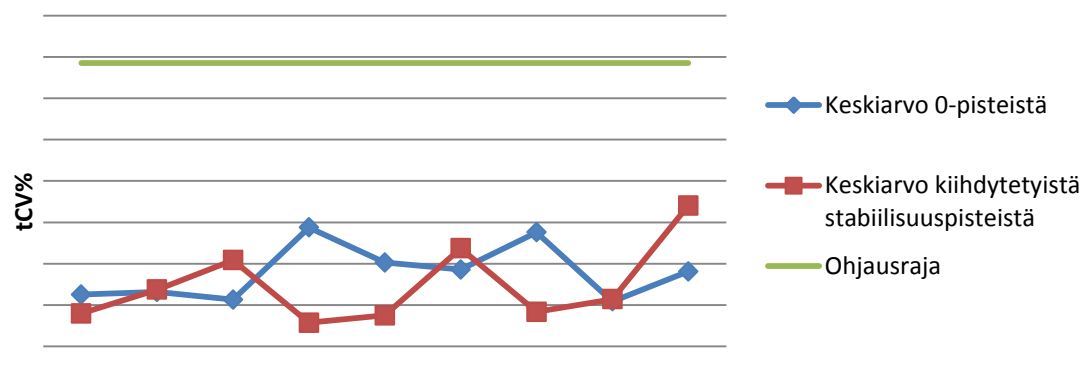
Kuvio 30. Tasokalibraattori K3:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

Tasokalibraattori K4:n levyn sisäinen hajonta (tCV%) ja ohjausraja

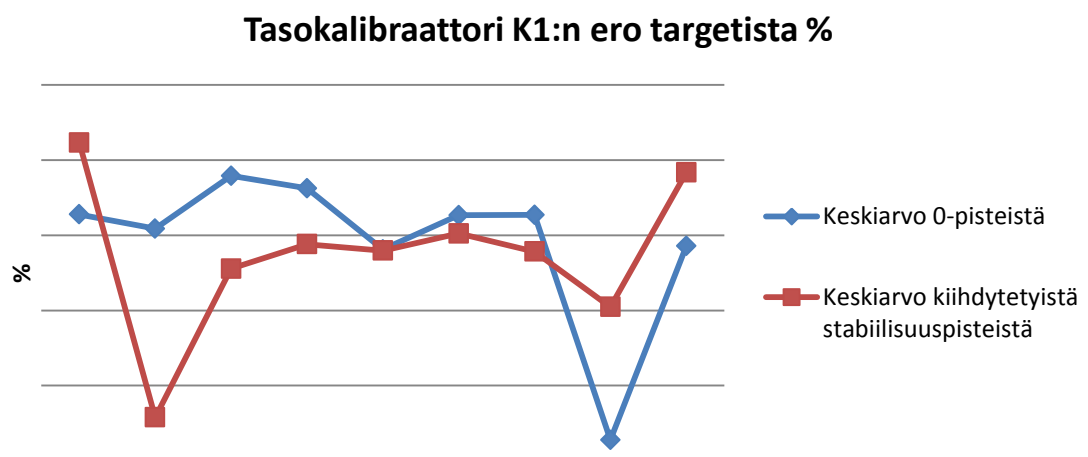


Kuvio 31. Tasokalibraattori K4:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.

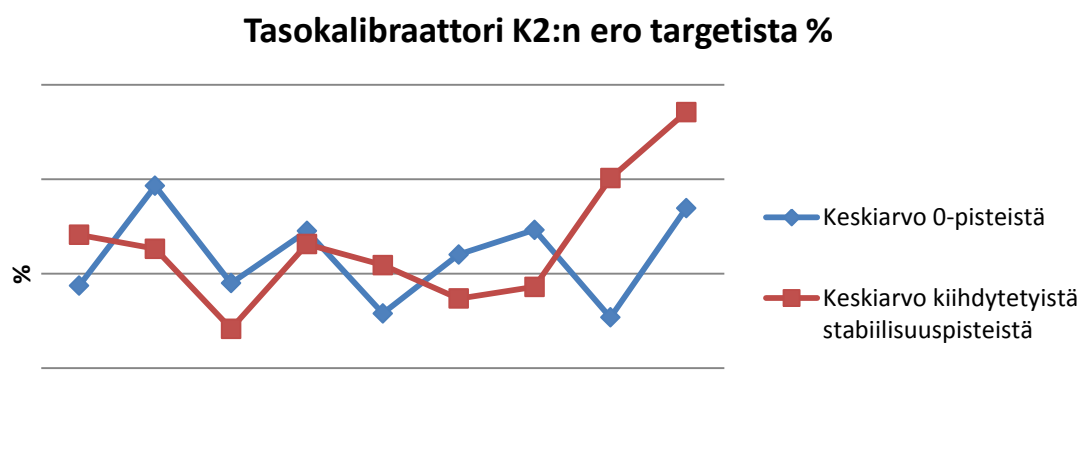
Tasokalibraattori K5:n levyn sisäinen hajonta (tCV%) ja ohjausraja



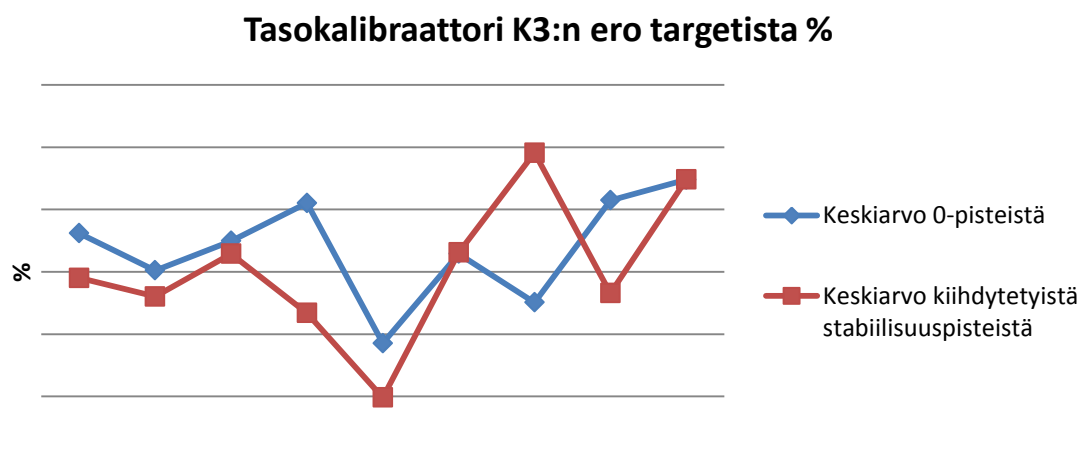
Kuvio 32. Tasokalibraattori K5:n levyn sisäinen hajonta ja ohjausraja.



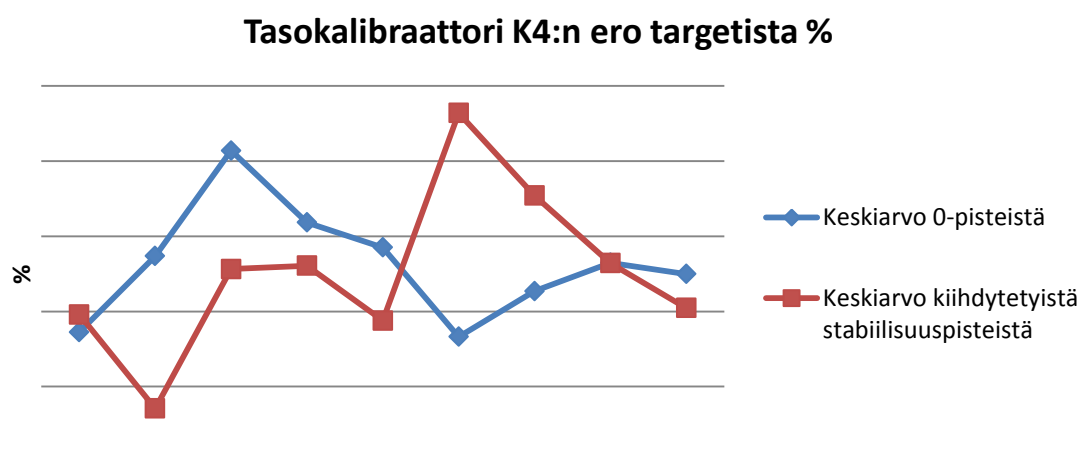
Kuvio 33. Tasokalibraattori K1:n ero targetista %.



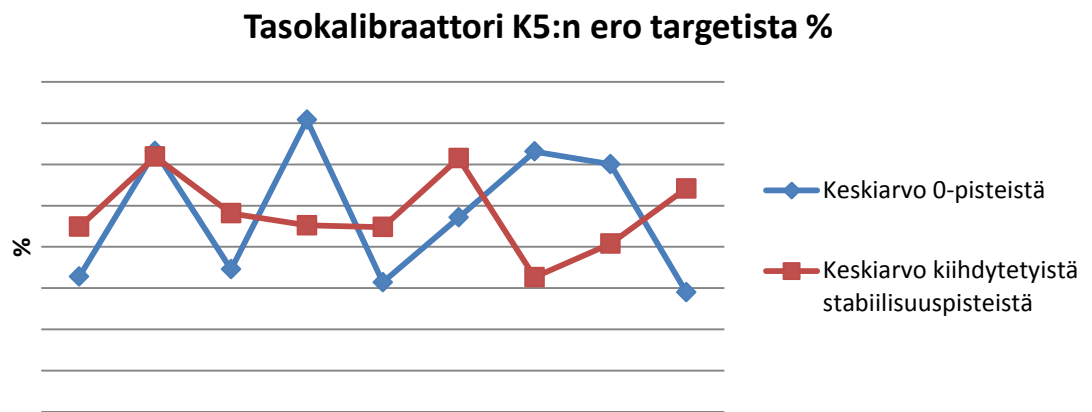
Kuvio 34. Tasokalibraattori K2:n ero targetista %.



Kuvio 35. Tasokalibraattori K3:n ero targetista %.



Kuvio 36. Tasokalibraattori K4:n ero targetista %.



Kuvio 37. Tasokalibraattori K5:n ero targetista.